



**Mariela Martins
Nolasco**

**Ligações de hidrogénio do tipo C-H...O em
estruturas supramoleculares**



**Mariela Martins
Nolasco**

**Ligações de hidrogénio do tipo C-H...O em
estruturas supramoleculares**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química, realizada sob a orientação científica do Doutor Paulo Jorge de Almeida Ribeiro Claro, Professor Associado do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Apoio financeiro da FCT e do FSE no âmbito do III Quadro Comunitário de Apoio.

Em memória do meu avô Rito....

o júri

presidente

Prof. Dr. José Carlos da Silva Neves

professor catedrático do Departamento de Electrónica, Telecomunicações e Informática da Universidade de Aveiro

Prof. Dr. Juan Carlos Otero Fernández de Molina

professor catedrático do Departamento de Química-Física, Universidade de Málaga, Espanha

Prof. Dr. José Joaquim Cristino Teixeira Dias

professor catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Dr. Luís António Ferreira Martins Dias Carlos

professor catedrático do Departamento de Física da Universidade de Aveiro

Doutor Paulo Jorge de Almeida Ribeiro Claro

professor associado do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Doutor José Ricardo Ramos Franco Tavares

professor auxiliar da Faculdade de Ciência e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

agradecimentos

Desejo agradecer, em primeiro lugar, ao Professor Paulo Ribeiro-Claro a oportunidade de realização de doutoramento, a orientação científica prestada no decurso do mesmo, assim como o seu apoio e amizade. Agradeço também à Guida e ao Pedro pela amizade e pela discussão acerca de alguns temas científicos.

Agradeço ao CICECO por ter criado as condições necessárias para a realização dos trabalhos aqui apresentados.

Agradeço à Unidade de Química-Física Molecular da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra pela amabilidade na aquisição de alguns espectros de Raman.

O meu mais sincero agradecimento a todos os colegas do Departamento de Química, todos eles especiais como este momento, que me ajudaram e me permitiram chegar até aqui. Em particular, queria agradecer à Mariana Sardo, Sandra Gago e Salete Balula pela enorme amizade demonstrada. Agradeço também à Susaninha, pois apesar da pouca convivência durante estes últimos tempos, teve sempre uma palavra de apoio.

Os meus agradecimentos muito especiais são para os meus familiares directos: pai, mãe, avó, manas e cunhados e claro as “meninas” do meu coração: Catarina, Bruna e Margarida. Um agradecimento muito especial ao Carlos, porque, sempre ao meu lado, apoiou incondicionalmente as decisões que fui tomando na vida. Obrigado por tudo.

palavras-chave

Ligações de hidrogénio C-H \cdots O, química supramolecular, espectroscopia vibracional, ciclodextrinas, pseudopolimorfismo, cálculos ab initio.

resumo

Na presente dissertação foram estudadas ligações de hidrogénio em fase condensada, com especial destaque para as ligações de hidrogénio C-H \cdots O, em sistemas simples e supramoleculares. Para atingir os objectivos propostos neste trabalho de investigação, foram utilizadas, de forma complementar, duas técnicas: a espectroscopia vibracional (de carácter experimental) e os cálculos ab initio (de carácter computacional). A espectroscopia vibracional permite detectar a associação de moléculas em fase condensada, enquanto que do ponto de vista computacional, os cálculos ab initio permitem obter informação referente aos mecanismos de associação envolvidos, nomeadamente no que respeita à possível estrutura de dímeros e compostos de inclusão em ciclodextrinas, energia da interacção e energia de inclusão. Adicionalmente, é apresentada uma nova metodologia PiMM – Pares em Materiais Moleculares – que permite não só uma atribuição completa do espectro vibracional, mas também a elucidação estrutural de alguns sistemas em estudo.

keywords

C-H \cdots O hydrogen bonds, supramolecular chemistry, vibrational spectroscopy, cyclodextrins, pseudopolymorphism, ab initio calculations.

abstract

In the present dissertation, the hydrogen bonds in the condensed phase, with special emphasis to the C-H \cdots O hydrogen bonds, were studied in simple and supramolecular systems. In order to accomplish the final goals in this investigation, two techniques were used, in a complementary way: the vibrational spectroscopy (of experimental nature) and ab initio calculations (of computational nature). Vibrational spectroscopy allows the detection of molecular association in condensed phase, while from the computational point-of-view, the ab initio calculations provide information related with the involved association mechanisms, mainly in what concerns the possible structure of dimers and inclusion compounds, the interaction energy and the inclusion energy. In addition, a new methodology PIMM – Pairs in Molecular Materials is presented, which allows a complete assignment of the vibrational spectra and also the structural elucidation of some systems in study.

<i>Índice Geral</i>	xv
<i>Lista de Figuras</i>	xxi
<i>Lista de Tabelas</i>	xxix
<i>Lista de Abreviaturas</i>	xxxix

Índice Geral

Capítulo I

<i>Das moléculas aos sistemas supramoleculares</i>	1
RESUMO	3
I.1 – Enquadramento científico	4
I.1.1 – Química supramolecular: definição simples	4
I.1.2 – Ligações de hidrogénio C-H \cdots O: relevância em química supramolecular	5
I.1.3 – Polimorfismo e pseudopolimorfismo: aspectos fundamentais	11
I.1.4 – Química hóspede-hospedeiro: compostos de inclusão em ciclodextrinas	13
I.2 – Linhas orientadoras de investigação	15
I.2.1 – Métodos de estudo	15
I.2.2 – Sistemas em estudo	16
I.3 – Publicações científicas no âmbito da dissertação	17
I.4 – Bibliografia	18

Capítulo II

<i>Ligações de hidrogénio: aplicabilidade da espectroscopia vibracional e dos cálculos ab initio</i>	23
RESUMO	25
II.1 – Ligação de hidrogénio: introdução	26
II.1.1 – Definição	26
II.1.2 – Classificação	27
II.1.3 – Relação entre parâmetros geométricos e energéticos	28

II.1.4 – Interações constituintes da ligação de hidrogénio	29
II.2 – Técnicas de estudo	30
II.2.1 – Experimentais: espectroscopia vibracional	31
II.2.2 – Computacionais: cálculos de orbitais moleculares do tipo <i>ab initio</i>	36
II.3 – Aplicação da espectroscopia vibracional	39
II.3.1 – Propriedades espectroscópicas da banda de elongação <i>X-H</i>	42
II.3.2 – Correlações entre parâmetros estruturais e vibracionais	43
II.3.3 – Estudos de diluição e de variação de temperatura	44
II.3.4 – Estudo de interações hóspede-hospedeiro	48
II.4 – Aplicação dos cálculos <i>ab initio</i>	49
II.5 – Bibliografia	51

Capítulo III

<i>Ligações de hidrogénio C-H\cdotsO=C em líquidos: sistemas orgânicos de pequena dimensão</i>	55
--	-----------

RESUMO	57
III.1 – Ligações de hidrogénio C-H \cdots O e o espectro vibracional	58
III.1.1 – Historial controverso: desvio para o azul	58
III.1.2 – Evidência de ligações C-H \cdots O=C no espectro vibracional	62
III.2 – Ligações C-H \cdots O na ciclohexenona revelam o comportamento espectroscópico dos doadores C(sp ³)-H e C(sp ²)-H	67
III.2.1 – Objectivos	67
III.2.2 – Resultados e discussão	67
III.2.2.1 – Cálculos <i>ab initio</i>	67
III.2.2.2 – Espectroscopia vibracional	71
III.2.3 – Conclusões	79
III.3 – Evidência de ligações C-H \cdots O nos modos ν C=O e ν C-H da dihidrocinarina	81
III.3.1 – Objectivos	81
III.3.2 – Resultados e discussão	82
III.3.2.1 – Atribuição do espectro vibracional	82
III.3.2.2 – Estudo combinado de espectroscopia vibracional e cálculos <i>ab initio</i>	90

III.3.3 – Conclusões	100
III.4 – Bibliografia	101

Capítulo IV

<i>PiMM: Pares em Materiais Moleculares</i>	107
RESUMO	109
IV.1 – Introdução	110
IV.1.1 – Metodologia PiMM – Pares em Materiais Moleculares	110
IV.1.2 – Interesse das metil-xantinas como sistemas de estudo	112
IV.2 – Resultados e discussão	114
IV.2.1 – Selecção de pares moleculares representativos das estruturas cristalinas	114
IV.2.1.1 – Teofilina	115
IV.2.1.2 – Teobromina e cafeína	118
IV.2.2 – Aplicação da metodologia PiMM na atribuição vibracional	122
IV.2.2.1 – Teofilina	122
IV.2.2.2 – Teobromina e cafeína	130
IV.3 – Conclusões	138
IV.4 – Bibliografia	140

Capítulo V

<i>Transições pseudopolimórficas em sólidos farmacêuticos: avaliação por espectroscopia de Raman</i>	143
RESUMO	145
V.1 – Introdução	146
V.1.1 – Importância do conhecimento das transições polimórficas e pseudopolimórficas	146
V.1.2 – Monitorização das transições pseudopolimórficas: metodologia experimental	149
V.2 – Resultados e discussão	153

V.2.1 – Selecção das regiões espectrais mais sensíveis a transições pseudopolimórficas	153
V.2.1.1 – Cafeína	153
V.2.1.2 – Teofilina	154
V.2.2 – Calibração	155
V.2.2.1 – Cafeína	155
V.2.2.2 – Teofilina	157
V.2.3 – Transição anidro → hidrato: determinação do mecanismo	158
V.2.3.1 – Cafeína	159
V.2.3.2 – Teofilina	161
V.2.4 – Transição anidro → hidrato: determinação da humidade relativa crítica	165
V.2.4.1 – Cafeína	165
V.2.4.2 – Teofilina	166
V.2.5 – Transição hidrato → anidro: determinação do mecanismo	167
V.2.5.1 – Cafeína	167
V.2.5.2 – Teofilina	170
V.2.6 – Transição hidrato → anidro: determinação da humidade relativa crítica	174
V.2.6.1 – Cafeína	174
V.2.6.2 – Teofilina	175
V.3 – Conclusões	175
V.4 – Bibliografia	177

Capítulo VI

<i>Compostos de inclusão em ciclodextrinas</i>	181
RESUMO	183
VI.1 – Considerações gerais	184
VI.2 – Compostos de inclusão do ácido trans-cinâmico e seus derivados fenólicos	186
VI.2.1 – Introdução	186
VI.2.2 – Resultados e discussão	188
VI.2.2.1 – Análise conformacional dos hóspedes	188

VI.2.2.2 – Investigação da formação de compostos de inclusão	191
VI.2.3 – Conclusões	202
VI.3 – Compostos de inclusão do bisciclopentadienildicloreto de nióbio	203
VI.3.1 – Introdução	203
VI.3.2 – Discussão dos resultados obtidos por espectroscopia vibracional e cálculos <i>ab initio</i>	204
VI.3.3 – Conclusões	209
VI.4 – Bibliografia	210

Capítulo VII

<i>Considerações finais</i>	217
VII.1 – Conclusões finais	219
VII.2 – Trabalho futuro	220

Capítulo VIII

<i>Secção experimental e métodos computacionais</i>	223
VIII.1 – Secção experimental	225
VIII.1.1 – Materiais utilizados	225
VIII.1.2 – Preparação de amostras de teofilina/cafeína hidratadas e teobromina deuterada	225
VIII.1.3 – Preparação de amostras de teofilina/cafeína em diferentes condições experimentais	226
VIII.1.4 – Estudos de calibração realizados nos sistemas teofilina e cafeína	227
VIII.1.5 – Preparação de compostos de inclusão	227
VIII.1.5.1 – Ácido trans-cinâmico e seus derivados fenólicos em α -, β - e γ -ciclodextrinas	227
VIII.1.5.2 – Preparação de misturas físicas com diferentes proporções hóspede/hospedeiro	228
VIII.1.5.3 – Bisciclopentadienildicloreto de nióbio em β -ciclodextrina e TRIMEB	228
VIII.1.6 – Técnicas experimentais	228
VIII.1.6.1 – Espectroscopia de Raman	228

VIII.1.6.2 – Espectroscopia de Infravermelho	229
VIII.1.6.3 – Difusão inelástica de neutrões	229
VIII.1.6.4 – Análises termogravimétricas	230
VIII.1.6.5 – Análises gravimétricas	230
VIII.1.7 – Tratamento de dados	230
VIII.1.7.1 – Obtenção de pontos pseudo-isobélicos e ajuste de bandas	230
VIII.1.7.2 – Tratamento matemático	230
VIII.2 – Métodos computacionais	231
VIII.3 – Bibliografia	233

Lista de Figuras

<i>Capítulo I</i>	1
Figura I.1 – Representação esquemática da estrutura molecular do ácido 3,5-dinitrocinâmico (a) e ácido 4-cloro-fenil-2-propiónico (b).	6
Figura I.2 – Estrutura cristalina do ácido 3,5-dinitrocinâmico, na qual se verifica a existência de ligações de hidrogénio $C-H \cdots O$ e $O-H \cdots O$.	6
Figura I.3 – Estrutura cristalina do ácido 4-cloro-fenil-2-propiónico, na qual se verifica a existência de ligações de hidrogénio $O-H \cdots O$ e interacções $Cl \cdots Cl$.	7
Figura I.4 – Representação esquemática da estrutura molecular do 1,3,5-tri(4-hidroxifenil)benzeno (a) e da respectiva cadeia cooperativa linear finita (b).	8
Figura I.5 – Estrutura cristalina do $[Cr(CO)_3\{\eta^6-[7-exo-(C \equiv CH)C_7H_7]\}]$, na qual se verifica a existência de um contacto $C-H \cdots O \equiv C$ longo ($H \cdots O$ de 2.92 Å).	8
Figura I.6 – Diagrama Molscript da proteína fosfolípase, no qual são evidenciadas diferentes classes de ligações de hidrogénio. (a) Ligações de hidrogénio $N-H \cdots O$ como as encontradas em hélices α . (b) Ligações de hidrogénio $C-H \cdots O$ entre a Lys153 e Val149. (c) Ligações $N-H \cdots \pi$ entre a Ser 64 e o anel aromático da Tyr61. (d) Ligações $C-H \cdots \pi$ entre a Trp238 e o anel aromático da Phe94.	9
Figura I.7 – Interacções $C^\alpha-H \cdots O=C$ verificadas nas folhas- β das proteínas (a) e na tripla hélice do colagénio (b). As linhas a tracejado representam ligações de hidrogénio.	10
Figura I.8 – Representação esquemática da estrutura molecular do 1,3-dibromo-2,4,6-trinitrobenzeno (a) e respectiva estrutura cristalina (b), na qual se verifica a existência de ligações de hidrogénio $C-H \cdots O$ ao longo dos eixos polares.	11
Figura I.9 – Representação esquemática da estrutura molecular do <i>Nabumetone</i> (a) e diagramas de empacotamento dos respectivos polimorfos (b) (topo: forma I, base: forma II).	12
Figura I.10 – Representação estrutural (a) e esquemática (b) da α -, β - e γ -CD ($n=6, 7$ e 8 respectivamente).	14
Figura I.11 – Estrutura cristalina do complexo β -CD-etanol octahidratado a 15K. Ligações de hidrogénio $O-H \cdots O$ estão representadas por linhas contínuas enquanto que as ligações $C-H \cdots O$ estão representadas pelas linhas descontínuas.	15

Capítulo II	23
Figura II.1 – Definição dos parâmetros geométricos r , d , D , θ e ϕ para uma ligação de hidrogénio.	28
Figura II.2 – Representação esquemática da energia potencial em função da distância d .	29
Figura II.3 – Padrão das ligações de hidrogénio existente no mestranol.	44
Capítulo III	55
Figura III.1 – Representação esquemática da estrutura molecular da ciclohexenona. Adicionalmente é incluída a numeração dos átomos utilizada ao longo do presente estudo. As abreviaturas ax e eq são utilizadas para estabelecer a distinção entre os hidrogénios ligados ao C(6), um em posição axial (ax) e outro em posição equatorial (eq).	67
Figura III.2 – Geometrias optimizadas ao nível B3LYP/6-31G* para as estruturas diméricas de menor energia obtidas para a ciclohexenona. Adicionalmente são incluídas para cada dímero as distâncias calculadas em pm das ligações de hidrogénio. Aos níveis MP2/6-31G* e MP2/6-311++G**, as distâncias das ligações de hidrogénio são de uma maneira geral mais curtas por um factor de aproximadamente 0.96 e 0.97, respectivamente.	68
Figura III.3 – Variações de cargas atómicas verificadas durante a dimerização (em me) obtidas pela análise NBO. Apenas os valores superiores a 5 me são apresentados e representam ganhos ou perdas em relação aos monómeros correspondentes.	71
Figura III.4 – Espectros de FT-Raman, normalizados para uma área unitária, da ciclohexenona pura a diferentes temperaturas, na região de elongação do grupocarbonilo. Verifica-se a presença de um ponto pseudo-isobéstico a aproximadamente 1679 cm^{-1} . O aumento de temperatura provoca diferentes alterações nas intensidades das bandas, estando essas alterações indicadas por setas.	72
Figura III.5 – Polarização da ligação C=O.	73
Figura III.6 – Espectros de FT-Raman, à temperatura ambiente e na zona de elongação do carbonilo, de soluções de ciclohexenona em CCl_4 e CH_3OH , com diferentes fracções molares (x).	74
Figura III.7 – Representação de (a) $\ln I_B/I_A$ em função de $1/T$ e (b) $\ln K_{eq}$ em função de $1/T$.	75
Figura III.8 – Espectros de FT-IR, na região dos modos de elongação dos grupos C-H, da ciclohexenona pura e de soluções em CCl_4 , com diferentes fracções molares (x).	77

Figura III.9 – Representação esquemática da estrutura molecular da dihidrocurmarina. Adicionalmente é incluída a numeração dos átomos utilizada ao longo do presente estudo. As abreviaturas <i>ax</i> e <i>eq</i> são utilizadas para estabelecer a distinção entre os hidrogénios ligados ao C(3) e ao C(4), um em posição axial (<i>ax</i>) e outro em posição equatorial(<i>eq</i>).	81
Figura III.10 – Representação esquemática da estrutura molecular da α -pirona.	82
Figura III.11 – Representação esquemática da estrutura molecular da curmarina.	84
Figura III.12 – Espectros de FT-Raman (a) e FT-IR (b) da dihidrocurmarina líquida, compreendidos nas regiões 100-1900 cm^{-1} e 2800-3200 cm^{-1} e obtidos à temperatura ambiente.	87
Figura III.13 – Espectros de FT-Raman (a cheio) e de FT-IR (a tracejado) da dihidrocurmarina líquida, na região $\nu_{\text{C=O}}$ (1680-1840 cm^{-1}) e obtidos à temperatura ambiente.	90
Figura III.14 – Espectros de polarização de FT-Raman I_{VV} (a cheio) e I_{VH} (a tracejado) da dihidrocurmarina líquida, na região $\nu_{\text{C=O}}$ (1680-1840 cm^{-1}) e obtidos à temperatura ambiente.	91
Figura III.15 – Espectros de FT-Raman da dihidrocurmarina pura obtidos a diferentes temperaturas na região $\nu_{\text{C=O}}$ (1680-1840 cm^{-1}).	92
Figura III.16 – Dependência do coeficiente de acoplamento \mathcal{W} (base) e dos valores de frequência “não perturbados”, ν_{0_1} e ν_{0_2} (topo), com a temperatura, calculados para o par 1769/1778 cm^{-1} .	93
Figura III.17 – Espectros de FT-Raman, à temperatura ambiente e na região $\nu_{\text{C=O}}$ (1680-1840 cm^{-1}), de soluções de dihidrocurmarina em CCl_4 , com diferentes fracções molares (x).	94
Figura III.18 – Representação gráfica de $\ln (I_{1754}+I_{1769})/I_{1778}$ em função do inverso da temperatura.	95
Figura III.19 – Geometria otimizada ao nível B3LYP/6-31G* para uma das estruturas diméricas da dihidrocurmarina de menor energia (após contabilização da energia vibracional do ponto zero, ZPVE).	96
Figura III.20 – Espectros de FT-IR, na região dos modos de elongação dos grupos C-H , da dihidrocurmarina pura e de soluções em CCl_4 , com diferentes fracções molares (x).	97
Figura III.21 – Espectros INS (a,b) e de infravermelho (c) simulados para o monómero dihidrocurmarina (a) e para o dímero baseado em ligações de hidrogénio $\text{C-H}\cdots\text{O}$ (b,c). A linha a tracejado indica a posição do modo anti-translacional $\nu_{\text{H}\cdots\text{O}}$.	98
Figura III.22 – Espectros INS obtidos para amostras de dihidrocurmarina pura (a) e de soluções em CCl_4 com diferentes fracções molares, $x=0.5$ (b) e $x=0.1$ (a).	99

- Figura IV.1 – Representação esquemática das metil-xantinas: teofilina (TP), teobromina (TB) e cafeína (CA). 113
- Figura IV.2 – Numeração dos átomos e representação esquemática dos pares moleculares estabelecidos por relevantes contactos intermoleculares observados nas estruturas cristalinas retiradas da Base de Dados de Cambridge (códigos de referência indicados): par I (teofilina anidra, BAPLOT01), pares II-V (teofilina hidratada, THEOPH/THEOPH01), pares VI e VII (teobromina anidra, SEDNAQ), pares VII-X (cafeína hidratada, CAFINE/CAFINE01). A notação O_w indica os átomos de oxigénio da molécula de água. 115
- Figura IV.3 – Estruturas optimizadas dos pares moleculares seleccionados para descrever os contactos intermoleculares observados nas estruturas cristalinas da teofilina anidra (TPa, par I) e teofilina hidratada (TPh, pares II-V). As distâncias $H \cdots N$ e $H \cdots O$ calculadas estão também incluídas (em pm). 117
- Figura IV.4 – Estruturas optimizadas dos pares moleculares seleccionados para descrever os contactos intermoleculares observados na estrutura cristalina da teobromina anidra (TBa). As distâncias $H \cdots O$ calculadas estão também incluídas (em pm). 119
- Figura IV.5 – Estruturas optimizadas dos pares moleculares seleccionados para descrever os contactos intermoleculares observados na estrutura cristalina da cafeína hidratada (CAh, pares VIII-X). Adicionalmente, para descrever um possível contacto intermolecular existente na cafeína anidra (CAa), é incluído o par molecular XI. As distâncias $H \cdots N$ e $H \cdots O$ calculadas estão também incluídas (em pm). 120
- Figura IV.6 – Exemplo da aplicação da metodologia com a teofilina anidra (TPa) e hidratada (TPh). Espectros de Raman calculados (A, B e D) e experimentais (C e E) na região $1000-1800\text{ cm}^{-1}$ do monómero TP (A), do par molecular I (B), TPa (C), par molecular II (D) e TPh (E). 123
- Figura IV.7 – Espectros de FT-IR da teofilina anidra (TPa, A), hidratada (TPh, B) e hidratada deuterada (TPh-d, C) nas regiões $500-1000\text{ cm}^{-1}$ e $2000-3600\text{ cm}^{-1}$, com atribuições baseadas em desvios isotópicos. Os asteriscos incluídos no espectro C indicam a presença residual de TPh não-deuterada. 126
- Figura IV.8 – Espectros de infravermelho, na região $550-950\text{ cm}^{-1}$, calculados para o monómero TB (A), e para os pares molecular VI (B) e VII (C). 134
- Figura IV.9 – Espectros de FT-Raman (A) e FT-IR (B) da teobromina anidra (TBa) na região $200-1000\text{ cm}^{-1}$: linhas sólidas referem-se à TBa, linhas a tracejado referem-se à TBa deuterada. Algumas atribuições da TBa, estabelecidas com base nos desvios isotópicos (linhas verticais), são incluídas. 136
- Figura IV.10 – Espectros de FT-IR da cafeína anidra (CAa, A) e cafeína hidratada (CAh, B) na região $350-2000\text{ cm}^{-1}$ e $2600-3800\text{ cm}^{-1}$. 137

Figura V.1 – Representação esquemática da cafeína (CA) e da teofilina (TP).	147
Figura V.2 – Espectros FT-Raman da cafeína anidra (CAa, a) e da cafeína hidratada (CAh, b) nas regiões espectrais 100-1800 cm^{-1} e 2700-3400 cm^{-1} . As regiões que apresentam as diferenças mais notórias estão evidenciadas.	153
Figura V.3 – Espectros FT-Raman da teofilina anidra (TPa, a) e da teofilina hidratada (TPh, b) nas regiões espectrais 100-1800 cm^{-1} e 2750-3500 cm^{-1} . As regiões que apresentam as diferenças mais notórias estão evidenciadas.	154
Figura V.4 – Espectros FT-Raman, na região espectral 3075-3155 cm^{-1} , de misturas físicas com frações molares de cafeína hidratada (CAh) iguais a 0.0, 0.155, 0.500, 0.751 e 1. Verifica-se a presença de um ponto pseudo-isosbético a aproximadamente 3117 cm^{-1} .	155
Figura V.5 – Procedimento de calibração, realizado na região espectral 3075-3155 cm^{-1} , de misturas físicas com frações molares de cafeína hidratada (CAh) iguais a 0.0, 0.155, 0.500, 0.751 e 1. (a) Ajuste linear sem considerar o factor de correcção; (b) Ajuste linear considerando o factor de correcção 1.32.	156
Figura V.6 – Comparação dos espectros FT-Raman da cafeína anidra (CAa, linha a cheio) e da cafeína hidratada (CAh, linha a tracejado) nas regiões espectrais 3075-3155 cm^{-1} , 1580-1620 cm^{-1} e 1270-1306 cm^{-1} . As intensidades das bandas estão corrigidas de acordo com o factor de correcção calculado.	157
Figura V.7 – Comparação dos espectros FT-Raman da teofilina anidra (TPa, linha a cheio) e da teofilina hidratada (TPh, linha a tracejado) nas regiões espectrais 650-685 cm^{-1} , 900-940 cm^{-1} e 3060-3160 cm^{-1} . As intensidades das bandas estão corrigidas de acordo com o factor de correcção calculado. O asterisco indica a presença de bandas atribuídas a uma forma metastável da teofilina (TPm).	158
Figura V.8 – (a) Espectros FT-Raman, na região compreendida entre 1270-1310 cm^{-1} , da cafeína anidra (CAa) e (b) representação da fracção de hidratação (α_h , %), ambos (a) e (b) em função do tempo (expresso em minutos) de exposição a condições de RH=100 % e à temperatura ambiente de 22°C. Adicionalmente (Figura V.8a, a tracejado) é incluída uma exemplificação do processo de ajuste de bandas (banda obtida com 960 minutos de exposição), necessário para o cálculo da fracção de hidratação (α_h).	159
Figura V.9 – Espectros FT-Raman, nas regiões compreendidas entre 650-685 cm^{-1} e 900-940 cm^{-1} , da teofilina anidra (TPa) em função do tempo (expresso em minutos) de exposição a condições de RH=100 %.	161

Figura V.10 – Dados cinéticos do processo de hidratação da teofilina anidra (TPa), obtidos por determinação gravimétrica do teor total de água (x_h , quadrados pretos) e ajuste de bandas (α_h), nas regiões espectrais 3060-3160 cm^{-1} (círculos brancos), 650-685 cm^{-1} (círculos pretos) e 900-940 cm^{-1} (quadrados brancos): (a) representação gráfica da fracção do conteúdo total de água (x_h) e da fracção de hidratação (α_h) em função do tempo (expresso em minutos) de exposição a condições de RH=100 %; (b) ajuste dos valores de x_h e α_h à equação do mecanismo de nucleação aleatória Avrami-Erofeev ($n=0.5$). 162

Figura V.11 – (a) Espectros FT-Raman, na região compreendida entre 3075-3155 cm^{-1} , da cafeína anidra (CAa) e (b) representação da fracção de hidratação (α_h , %), ambos (a) e (b) em função de diferentes humidades relativas (%RH) e à temperatura ambiente de 22°C. 165

Figura V.12 – (a) Espectros FT-Raman, na região compreendida entre 3060-3160 cm^{-1} , da teofilina anidra (TPa) e (b) representação da fracção de hidratação (α_h , %), ambos (a) e (b) em função de diferentes humidades relativas (%RH) e à temperatura ambiente de 22°C. 167

Figura V.13 – Resultados obtidos com amostras de cafeína hidratada (CAh) armazenadas a 60°C (parte superior) e 45°C (parte inferior). (a) Espectros FT-Raman, na região compreendida entre 3075-3155 cm^{-1} , da cafeína hidratada (CAh) e (b) representação da fracção de desidratação (α_a , %), ambos (a) e (b) em função de diferentes intervalos de tempo. Adicionalmente, verifica-se a presença de um ponto pseudo-isobástico a aproximadamente 3117 cm^{-1} . 168

Figura V.14 – Resultados obtidos com amostras de cafeína hidratada (CAh) armazenadas a 35°C. (a) Espectros FT-Raman, na região compreendida entre 3075-3155 cm^{-1} , da cafeína hidratada (CAh) e (b) representação da fracção de desidratação (α_a , %), ambos (a) e (b) em função de diferentes intervalos de tempo. 169

Figura V.15 – Curvas isotérmicas de dessorção de água, obtidas por análise gravimétrica, para a forma teofilina hidratada (TPh) a diferentes temperaturas, nomeadamente 35°C, 40°C, 47°C e 60°C em função do tempo de armazenamento (em minutos). 171

Figura V.16 – (a) Espectros FT-Raman, na região compreendida entre 3075-3155 cm^{-1} , da cafeína hidratada (CAh) e (b) representação da fracção de desidratação (α_a , %), ambos (a) e (b) em função de diferentes humidades relativas (%RH) e à temperatura ambiente de 22°C. 174

Capítulo VI

181

Figura VI.1 – Numeração dos átomos e representação esquemática do ácido trans-cinâmico (t-CIA) e seus derivados fenólicos, ácido 3-hidroxi-trans-cinâmico (t-3OHCIA), ácido 4-hidroxi-trans-cinâmico (t-4OHCIA) e ácido 3,4-dihidroxi-trans-cinâmico (t-3,4OHCIA). 187

Figura VI.2 – Geometrias otimizadas ao nível B3LYP/6-31G* para os vários conformeros do ácido trans-cinâmico (t-CIA). Adicionalmente estão indicados os valores de energia relativa, em kJ mol ⁻¹ , dos vários conformeros (após contabilização da energia vibracional do ponto zero, ZPVE).	188
Figura VI.3 – Geometrias otimizadas ao nível B3LYP/6-31G* para os vários conformeros do ácido 3-hidroxi-trans-cinâmico (t-3OHCIA). Adicionalmente estão indicados os valores de energia relativa, em kJ mol ⁻¹ , dos vários conformeros (após contabilização da energia vibracional do ponto zero, ZPVE).	189
Figura VI.4 – Geometrias otimizadas ao nível B3LYP/6-31G* para os vários conformeros do ácido 4-hidroxi-trans-cinâmico (t-4OHCIA). Adicionalmente estão indicados os valores de energia relativa, em kJ mol ⁻¹ , dos vários conformeros (após contabilização da energia vibracional do ponto zero, ZPVE).	190
Figura VI.5 – Comparação estabelecida na região 1100-1350 cm ⁻¹ , entre o espectro de FT-Raman do t-CIA no estado sólido e (a) os espectros previstos teoricamente para os dois conformeros (1) e (2) e (b) os espectros dos compostos de inclusão do t-CIA com α -, β - e γ -CD.	192
Figura VI.6 – Representação esquemática de dímeros centrossimétricos estabelecidos por ligações O–H...O(=C).	193
Figura VI.7 – Comparação estabelecida na região 1550-1800 cm ⁻¹ , entre os espectros de FT-Raman do t-CIA (a), t-3OHCIA (b), t-4OHCIA (c) e t-3,4OHCIA (d) no estado sólido (linha a cheio e cor preta) e os espectros dos correspondentes compostos de inclusão (representados com diferentes cores). Adicionalmente são incluídos os espectros de FT-Raman de soluções dos hóspedes em etanol (linha tracejada, fracção molar do hóspede $x_{\text{hóspede}} = 0.04$) e os espectros FT-IR dos hóspedes puros na região em estudo (gráfico inserido, linha a tracejado).	195
Figura VI.8 – Comparação estabelecida na região 3020-3150 cm ⁻¹ , entre os espectros de FT-Raman do t-CIA no estado sólido e os espectros de FT-Raman dos compostos de inclusão com α -, β - e γ -CD.	198
Figura VI.9 – Termogramas, no intervalo de temperaturas 0-350°C, do composto de inclusão $\beta\text{CD} \cdot t\text{CIA}$ (linha a preto), da β -CD (linha a azul ciano) e do hóspede puro t-CIA (linha a azul).	200
Figura VI.10 – Espectros de FT-Raman (a tracejado) e de FT-IR (a cheio) do Cp ₂ NbCl ₂ (1) β -CD·Cp ₂ NbCl ₂ (1a) e TRIMEB-CD·Cp ₂ NbCl ₂ (1b) na região compreendida entre 100-1800 cm ⁻¹ .	205

Figura VI.11 – Representação da energia (E , kJ mol^{-1}) em função da distância hóspede-hospedeiro e (R , pm) para as diferentes geometrias de inclusão do Cp_2NbCl_2 na β -CD (a) e na TRIMEB (b). As estruturas A e B permitem a inclusão de ambos os ligandos ciclopentadienilos (Cp), enquanto que as estruturas C e D permite a inclusão de apenas um Cp no interior da cavidade da CD. R é definido como a distância entre o plano formado pelos átomos de hidrogénio dos grupos hidroxilos secundários da β -CD ou grupos metoxilo da TRIMEB e o átomo da molécula Cp_2NbCl_2 que mais se aproxima do plano. Os valores negativos obtidos para R referem-se aos átomos dentro da cavidade da ciclodextrina.

207

Figura VI.12 – Representação esquemática das geometrias de inclusão de menores energias obtidas na inclusão do Cp_2NbCl_2 na β -CD.

208

Capítulo VIII

223

Figura VIII.1 – Representação esquemática do reservatório utilizado na exposição de amostras a determinados valores de humidade relativa (RH).

226

Lista de Tabelas

Capítulo III	55
Tabela III.1 – Energias de dimerização (dímero - 2 × monómero) para as estruturas diméricas de menor energia da ciclohexenona (ΔE , kJmol ⁻¹).	68
Tabela III.2 – Resultados obtidos pela análise NBO para os dímeros da ciclohexenona de menor energia, realizados ao nível B3LYP/6-31G* (energia de estabilização de segunda-ordem em kJ mol ⁻¹).	70
Tabela III.3 – Atribuição dos espectros vibracionais de FT-Raman e de FT-IR da α -pirona.	83
Tabela III.4 – Atribuição dos espectros vibracionais de FT-Raman e de FT-IR da cumarina.	85
Tabela III.5 – Atribuição dos espectros vibracionais de FT-Raman e de FT-IR da dihidrocumarina.	87
Capítulo IV	107
Tabela IV.1 – Frequências vibracionais (cm ⁻¹), obtidas por cálculos <i>ab initio</i> , para o monómero e para os diferentes pares moleculares estabelecidos com base na estrutura cristalina da teofilina anidra (TPa) e hidratada (TPh). Apenas são apresentados os desvios superiores a 10 cm ⁻¹ .	118
Tabela IV.2 – Frequências vibracionais (cm ⁻¹), obtidas por cálculos <i>ab initio</i> , para o monómero e para os diferentes pares moleculares estabelecidos com base na estrutura cristalina da teobromina anidra (TBa). Apenas são apresentados os desvios superiores a 10 cm ⁻¹ .	121
Tabela IV.3 – Frequências vibracionais (cm ⁻¹), obtidas por cálculos <i>ab initio</i> , para o monómero e para os diferentes pares moleculares (VIII-X) estabelecidos com base na estrutura cristalina da cafeína hidratada (CAh). Adicionalmente, é incluído o par molecular XI como possível contacto intermolecular existente na cafeína anidra (CAa). Apenas são apresentados os desvios superiores a 10 cm ⁻¹ .	122
Tabela IV.4 – Atribuição completa dos espectros vibracionais FT-Raman e FT-IR da teofilina anidra (TPa) e hidratada (TPh) estabelecida com recurso à metodologia-assistida computacionalmente - PiMM.	127
Tabela IV.5 – Atribuição completa dos espectros vibracionais FT-Raman e FT-IR da teobromina anidra (TBa) estabelecida com recurso à metodologia-assistida computacionalmente - PiMM.	130
Tabela IV.6 – Atribuição completa dos espectros vibracionais FT-Raman e FT-IR da cafeína anidra (CAa) e hidratada (CAh) estabelecida com recurso à metodologia-assistida computacionalmente - PiMM.	132

Capítulo V	143
Tabela V.1 – Mecanismos de reacções no estado sólido e respectivas equações.	151
Tabela V.2 – Resultados obtidos na calibração das várias misturas físicas (CAa + CAh) com fracções molares conhecidas.	156
Tabela V.3 – Resultados obtidos na calibração das várias misturas físicas (TPa + TPh) com fracções molares conhecidas.	157
Tabela V.4 – Valores da constante de velocidade de hidratação (k), desvio padrão do declive (S_b), coeficiente de correlação (R^2) e tempos de meia hidratação ($t_{1/2}$) e de hidratação completa (t_h), obtidos com os melhores ajustes lineares ($f(\alpha)$) estabelecidos para a cafeína anidra (CAa) nas três regiões espectrais consideradas.	160
Tabela V.5 – Valores da constante de velocidade de hidratação (k), desvio padrão do declive (S_b), coeficiente de correlação (R^2) e tempos de meia hidratação ($t_{1/2}$) e de hidratação completa (t_h), obtidos com os melhores ajustes lineares ($f(\alpha)$) estabelecidos para a teofilina anidra (TPa) nas três regiões espectrais consideradas e nas medições do teor de água. Os resultados obtidos com o ajuste linear dos valores da fracção do conteúdo total de água (x_h) em função do tempo de exposição a condições de RH=100%, estabelecidos por pesagem de massas, estão incluídos na última linha. Os valores experimentais de $t_{1/2}$ e t_h , inferidos a partir de literatura disponível, estão também incluídos.	163
Tabela V.6 – Valores da constante de velocidade de hidratação (k), desvio padrão do declive (S_b), coeficiente de correlação (R^2), obtidos com os melhores ajustes lineares ($f(\alpha)$) dos pontos obtidos no primeiro passo de desidratação da cafeína hidratada (CAh) a 35°C, nas três regiões espectrais consideradas.	170
Tabela V.7 – Valores da constante de velocidade de hidratação (k), desvio padrão do declive (S_b), coeficiente de correlação (R^2), obtidos com os melhores ajustes lineares ($f(\alpha)$) dos pontos obtidos no segundo passo de desidratação da cafeína hidratada (CAh) a 35°C, nas três regiões espectrais consideradas.	170
Capítulo VI	181
Tabela VI.1 – Frequências vibracionais (cm^{-1}) das bandas do t-CIA, t-3OHCIA, t-4OHCIA e t-3,4OHCIA puros no estado sólido observadas na região 1550-1800 cm^{-1} por espectroscopia de Raman ($\nu\text{C-C}_{\text{arom}}$, $\nu\text{C}_{(7)}=\text{C}_{(8)}$) e por espectroscopia FT-IR ($\nu\text{C}_{(9)}=\text{O}$).	196
Tabela VI.2 – Estequiometrias dos compostos de inclusão calculadas com base nas análises termogravimétricas (TGA).	201
Tabela VI.3 – Frequências vibracionais (cm^{-1}), obtidas experimentalmente porespectroscopia de Raman, para o Cp_2NbCl_2 (1), $\beta\text{-CD}\cdot\text{Cp}_2\text{NbCl}_2$ (1a) e $\text{TRIMEB}\cdot\text{CD}\cdot\text{Cp}_2\text{NbCl}_2$ (1b) na região compreendida entre 100-400 cm^{-1} . As descrições aproximadas para as bandas observadas estão também incluídas.	206

Lista de Abreviaturas

ATR – reflectância total atenuada, do inglês *Attenuated Total Reflection*

B3LYP – potencial de permuta de *Becke* com 3 parâmetros e o funcional de correlação de *Lee, Yang* e *Parr*.

BSSE – erro de sobreposição de bases, do inglês *Basis Set Superposition Error*

CA – cafeína

CAa – cafeína anidra

CAh – cafeína hidratada

CD – ciclodextrina

cHx – ciclohexenona

COU – cumarina

Cp – ciclopentadienilo

CP – correcção *contra-peso* do erro de sobreposição de bases (BSSE)

DFT – teoria do funcional de densidade, do inglês *Density Functional Theory*

DHCOU – dihidrocumarina

FT-IR – espectroscopia de absorção no Infravermelho com transformada de *Fourier*

FT-Raman – espectroscopia de difusão de Raman com transformada de *Fourier*

HF – método de *Hartree-Fock*

INS – difusão inelástica de neutrões, do inglês *Inelastic Neutron Scattering*

LanL2DZ – base de funções de valência dividida com potenciais eficazes

LanL2MB – base de funções mínima com potenciais eficazes

LP – par electrónico não partilhado

MP2 – teoria das perturbações de 2ª ordem, de *Møller-Plesset*

NBO – análise das orbitais de ligações naturais, do inglês *Natural Bond Orbitals*

ONIOM – método híbrido de mecânica molecular e mecânica quântica, do inglês *Our N-Layered Integrated Molecular Orbital and Molecular Mechanics*

RAL – *Rutherford Appleton Laboratory*

RH – humidade relativa, do inglês *Relative Humidity*

RMN – ressonância magnética nuclear

SCF – campo autocoerente, do inglês *Self Consistent Field*

STO – orbitais de tipo Slater, do inglês *Slater Type Orbitals*

TGA – análise termogravimétrica, do inglês *Termogravimetric Analysis*

TB – teobromina

TBa – teobromina anidra

TOF – tempo de voo, do inglês *Time of Flight*

TP – teofilina

TPa – teofilina anidra

TPh – teofilina hidratada

t-CIA – ácido trans-cinâmico

t-3OHCIA – ácido 3-hidroxi-trans-cinâmico

t-4OHCIA – ácido 4-hidroxi-trans-cinâmico

t-3,4OHCIA – ácido 3,4-dihidroxi-trans-cinâmico

TRIMEA – hexaquis-2,3,6-tri-O-metil-ciclodextrina- α

TRIMEB – hexaquis-2,3,6-tri-O-metil-ciclodextrina- β

TRIMEG – hexaquis-2,3,6-tri-O-metil-ciclodextrina- γ

ZPVE – energia vibracional do ponto zero, do inglês *Zero Point Vibrational Energy*

α -PYR – α -pirona

α -CD – ciclodextrina-alfa, com seis unidades de glicose

β -CD – ciclodextrina-beta, com sete unidades de glicose

γ -CD – ciclodextrina-gama, com oito unidades de glicose

Capítulo I

Das moléculas aos sistemas supramoleculares

*“Também na ciência
é impossível abrir novos campos
se não se estiver disposto a deixar o ancoradouro
seguro da doutrina aceite
e enfrentar o perigo de um arriscado
salto à frente em direcção ao vazio”*

W. Heisenberg

ÍNDICE

Capítulo I

<i>Das moléculas aos sistemas supramoleculares</i>	1
RESUMO	3
I.1 – Enquadramento científico	4
I.1.1 – Química supramolecular: definição simples	4
I.1.2 – Ligações de hidrogénio C-H \cdots O: relevância em química supramolecular	5
I.1.3 – Polimorfismo e pseudopolimorfismo: aspectos fundamentais	11
I.1.4 – Química hóspede-hospedeiro: compostos de inclusão em ciclodextrinas	13
I.2 – Linhas orientadoras de investigação	15
I.2.1 – Métodos de estudo	15
I.2.2 – Sistemas em estudo	16
I.3 – Publicações científicas no âmbito da dissertação	17
I.4 – Bibliografia	18

RESUMO

A presente dissertação reúne diferentes tópicos de pesquisa, relacionados entre si pelo facto de envolverem o estudo de ligações de hidrogénio intermoleculares, em particular ligações $C-H\cdots O$, numa variedade de sistemas que podem ser incluídos no domínio da química supramolecular. Neste contexto, e de modo a possibilitar uma abordagem inicial ao trabalho de investigação e simultaneamente uma visão global do mesmo, procedeu-se ao enquadramento científico dos vários tópicos, nomeadamente ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$, polimorfismo/pseudopolimorfismo e compostos de inclusão em ciclodextrinas, na área da química supramolecular. Depois de justificado o interesse dos diversos temas, são descritas as linhas orientadoras de investigação, nomeadamente os métodos utilizados e os diferentes tipos de sistemas em estudo, simples e supramoleculares. Finalmente, são mencionadas as publicações resultantes do trabalho desenvolvido durante o doutoramento.

I.1 – Enquadramento científico

Diferentes moléculas, ao serem colocadas em sistemas organizados, podem actuar de uma forma cooperativa, de tal modo que a sua função expande-se para além do plano individual. Tal efeito, que não se limita à molécula, traduz o verdadeiro conceito de química supramolecular, estabelecido por *Jean-Marie Lehn*, como “*a química para além da molécula*”¹.

O campo da química supramolecular²⁻⁵ é um campo científico de elevado interesse, fundamentalmente devido à sua extensa interdisciplinaridade. Estende-se desde a química orgânica com os processos sintéticos para a construção molecular, até à química de coordenação com os complexos metal – ião, à química-física com os estudos teórico e experimental de interacções intermoleculares, à bioquímica com os processos biológicos e à ciência dos materiais com as propriedades mecânicas dos sólidos. Neste contexto, o trabalho de investigação desenvolvido e apresentado nesta dissertação – que é essencialmente um trabalho de química-física molecular que envolve o estudo teórico e experimental de ligações de hidrogénio intermoleculares, com especial destaque para as ligações $C-H\cdots O$ – pode enquadrar-se na área da química supramolecular.

I.1.1 – Química supramolecular: definição simples

A química supramolecular centra-se essencialmente nas forças intermoleculares e tem como objectivo principal o desenvolvimento de sistemas químicos de elevada complexidade a partir de componentes que interactuam através de interacções intermoleculares. Neste contexto, *Lehn* propôs a seguinte analogia: “*supermoléculas estão para as moléculas e para a ligação intermolecular assim como as moléculas estão para os átomos e para as ligações covalentes*”¹.

As interacções intermoleculares existentes em estruturas supramoleculares são interacções fracas tais como ligações de hidrogénio, interacções ião-dipolo, interacções de *van der Waals*, entre outras. Tais forças são muito mais fracas que as ligações covalentes, mas podem ser exploradas e organizadas para agirem cooperativamente, contribuindo assim significativamente para a estabilidade da estrutura supramolecular.

A necessidade de criar metodologias que possibilitassem a combinação de moléculas em supermoléculas, tendo em conta as propriedades energéticas e geométricas das diferentes interacções intermoleculares, levou ao desenvolvimento da engenharia de cristais⁶⁻¹⁰. De uma maneira simples, a engenharia de cristais pode ser definida como a “*compreensão das interacções*

intermoleculares no contexto do empacotamento cristalino e a utilização desses conhecimentos na arquitectura de novos sólidos com determinadas propriedades físicas e químicas^{9,10}.

Numa tentativa de racionalizar e sistematizar a relação existente entre estruturas moleculares e supramoleculares, Desiraju desenvolveu o conceito de sintão supramolecular em analogia com o sintão molecular em síntese orgânica¹¹. Estes podem ser definidos como arranjos espaciais de interacções intermoleculares entre grupos funcionais complementares e que contêm toda a informação intrínseca aos processos de reconhecimento através dos quais as moléculas se associam em supermoléculas. Estes sintões desempenham em síntese supramolecular o mesmo papel que os convencionais sintões em síntese molecular.

A aplicação de sintões que tenham por base ligações de hidrogénio é essencial na engenharia de cristais. A ligação de hidrogénio tem sido mesmo descrita como a “*interacção chave na química supramolecular*”¹², particularmente na engenharia de cristais, nos processos de reconhecimento molecular¹². Este facto deve-se essencialmente à força e direcionalidade das ligações de hidrogénio¹³.

A construção supramolecular pode ser alcançada não apenas com as ligações de hidrogénio fortes, tais como as $O-H\cdots O$ e $N-H\cdots O$, mas também com ligações de hidrogénio fracas tais como as $C-H\cdots O$ ¹²⁻²³.

1.1. 2 – Ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$: relevância em química supramolecular

Na construção de estruturas supramoleculares que tenham como base ligações de hidrogénio fracas, tais como as ligações $C-H\cdots O$, a influência que estas exercem no empacotamento cristalino deve ser conhecida e compreendida antecipadamente.

Os papéis que estas interacções desempenham no empacotamento cristalino podem ser classificados como inócuos, de suporte e intrusos²⁴. Na primeira categoria, as ligações $C-H\cdots O$ existem mas não são nem distintivas nem significativas, existindo simplesmente numa estrutura que é na sua maioria determinada por outras interacções. Quando as ligações $C-H\cdots O$ desempenham um papel de suporte, as suas preferências direccionais são satisfeitas dentro das constrições geométricas de forças mais fortes, tais como ligações de hidrogénio $O-H\cdots O$ e $N-H\cdots O$ ou empacotamento $\pi\cdots\pi$. Ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$ que desempenham um papel intrusivo são eficazes o suficiente para perturbar os padrões e topologias das ligações de hidrogénio mais fortes. Em outras palavras, o empacotamento não pode ser simplesmente bem descrito até que estas ligações sejam activamente consideradas^{25,26}.

As estruturas cristalinas anômalas do ácido 4-cloro-fenil-2-propiónico e ácido 3,5-dinitrocinâmico, cujas estruturas moleculares se encontram representadas na Figura I.1, constituem exemplos interessantes de estruturas de cristais orgânicos nas quais as ligações $C-H\cdots O$ desempenham um papel intrusivo.

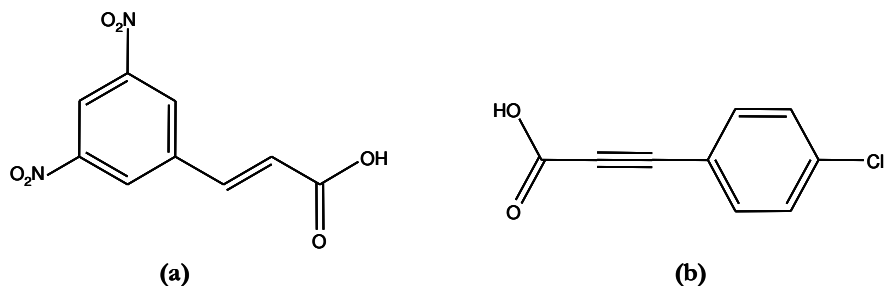


Figura I.1 – Representação esquemática da estrutura molecular do ácido 3,5-dinitrocinâmico (a) e ácido 4-cloro-fenil-2-propiónico (b).

O ácido 3,5-dinitrocinâmico é uma molécula que contém aceitadores do tipo oxigénio provenientes do grupo nitro e muitos grupos $C-H$ disponíveis²⁷. Este cristaliza sob a forma de um dímero $O-H\cdots O$, no qual as moléculas ligadas por ligações de hidrogénio estão relacionadas, não por um centro de inversão, como é usual, mas sim por um eixo de rotação de ordem 2. Ambos os dímeros, com centro de inversão e de rotação de ordem 2, são energeticamente equivalentes e, em princípio, constituem duas possibilidades razoáveis. Contudo, a estrutura cristalina do ácido 3,5-dinitrocinâmico (Figura I.2) mostra uma rede extensa de contactos $C-H\cdots O$. Estas ligações dominam a estrutura e os seus requisitos direccionais parecem ser incompatíveis com um dímero $O-H\cdots O$ com centro de inversão.

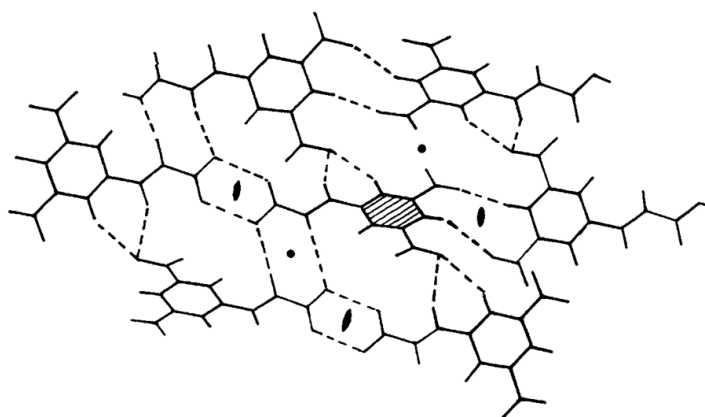


Figura I.2 – Estrutura cristalina do ácido 3,5-dinitrocinâmico²⁷, na qual se verifica a existência de ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$ e $O-H\cdots O$.

A formação da vasta rede de contactos $C-H\cdots O$ nesta molécula depende em grande parte da sua liberdade conformacional. Considerando, por exemplo, o ácido 2,4-dinitrocinâmico, verifica-se que este cristaliza na forma de dímero $O-H\cdots O$ com centro de inversão. Neste caso, o oxigénio do grupo nitro não participa efectivamente em ligações $C-H\cdots O$, provavelmente devido à sua inflexibilidade conformacional por impedimento estereoquímico. Deste modo, as possibilidades de distorção na rede $O-H\cdots O$ são reduzidas, o que permite que o ácido 2,4-dinitrocinâmico cristalice sob a forma de dímero $O-H\cdots O$ com centro de inversão.

Numa situação extrema à enunciada anteriormente, tem-se o ácido 4-cloro-fenil-2-propiónico. Este adopta uma estrutura cristalina rara (Figura I.3) com duas moléculas simétricas independentes, na qual a ausência de ligações $C-H\cdots O$, devido à falta de grupos $C-H$ disponíveis na estrutura molecular, leva à formação inesperada de catemeros (cadeia infinita de moléculas interligadas por ligações de hidrogénio num grupo espacial não-centrossimétrico) em vez de dímeros $O-H\cdots O$ ²⁸.

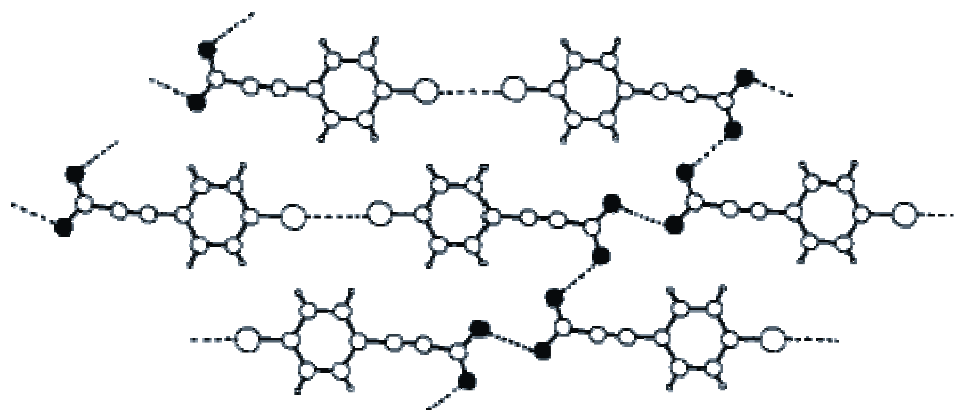


Figura I.3 – Estrutura cristalina do ácido 4-cloro-fenil-2-propiónico²⁸, na qual se verifica a existência de ligações de hidrogénio $O-H\cdots O$ e interações $Cl\cdots Cl$.

Um outro exemplo interessante é verificado com o 1,3,5-tri(4-hidroxifenil)benzeno²⁹ (Figura I.4a). Neste caso, apesar de ser esperada a presença de padrões infinitos, verifica-se um padrão $O-H\cdots O-H$ finito. Esta situação pode ser justificada pelo facto das ligações de hidrogénio fracas, que provocam a interrupção da cadeia, serem favorecidas por efeitos cooperativos. Deste modo, a cadeia cooperativa linear finita do 1,3,5-tri(4-hidroxifenil)benzeno evidencia uma cadeia de cinco ligações $O-H\cdots O$ (b,c,d,e,f) precedida por uma ligação $C-H\cdots O$ (a) e sucedida por uma ligação terminal $O-H\cdots \pi$ (g) (Figura I.4b).

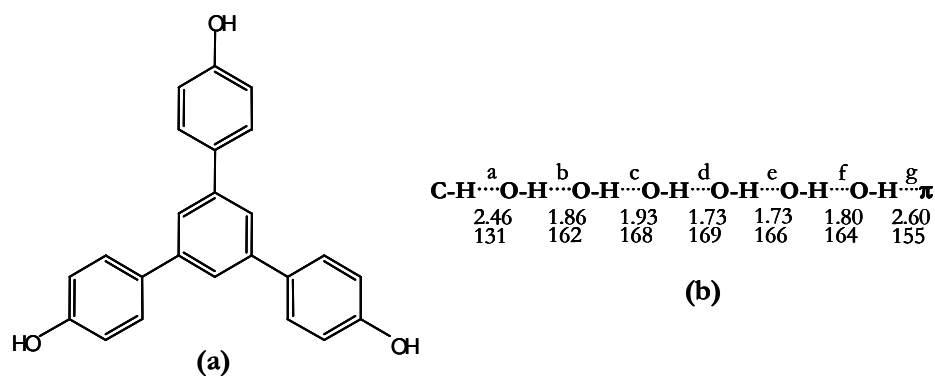


Figura I.4 – Representação esquemática da estrutura molecular do 1,3,5-tri(4-hidroxifenil)benzeno (a) e da respectiva cadeia cooperativa linear finita²⁹ (b).

A razão da importância das ligações $C-H\cdots O$ nas características estruturais de cristais orgânicos não é certamente a força desta interacção atractiva, mas sim a sua abundância em compostos orgânicos. Analogamente, em química organometálica, as ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$ desempenham também um papel importante^{24,30}. Este tipo de ligação é recorrente em organometálicos sólidos formados por moléculas que contêm um elevado número de ligandos CO e grupos $C-H$ ^{31,32}. Neste contexto, um exemplo interessante e que demonstra também a natureza de longo-alcance das ligações de hidrogénio fracas $C-H\cdots O$ é a estrutura cristalina do $[Cr(CO)_3\{\eta^6-[7-exo-(C\equiv CH)C_7H_7]\}]$ (Figura I.5)³¹. Nesta estrutura verifica-se a existência de um contacto $C-H\cdots O\equiv C$ longo, entre o grupo $C\equiv CH$ e o ligando CO , com uma separação $H\cdots O$ de 2.92 Å, cujo carácter de ligação de hidrogénio fraca foi estabelecido por espectroscopia vibracional.

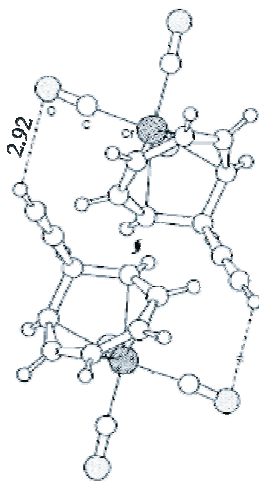


Figura I.5 – Estrutura cristalina do $[Cr(CO)_3\{\eta^6-[7-exo-(C\equiv CH)C_7H_7]\}]$, na qual se verifica a existência de um contacto $C-H\cdots O\equiv C$ longo ($H\cdots O$ de 2.92 Å).³¹

A estrutura e a função das moléculas biológicas são, em grande parte, determinadas pela presença de ligações de hidrogénio³³, como se pode verificar, por exemplo, na estrutura das proteínas (Figura I.6).

A relevância da participação de ligações intermoleculares $C-H\cdots O$ em vários processos biológicos, nomeadamente na determinação da estrutura e actividade de sistemas biológicos, tem sido assunto de discussão em muitos trabalhos de investigação³⁴⁻⁴⁸.

As ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$ em sistemas biológicos foram primeiramente descobertas em proteínas³⁶ e de seguida em outras macromoléculas biológicas³⁹ (Figura I.6b). Estas interações são muito comuns em carboidratos³⁴ e ácidos nucleicos⁴¹, sendo nestes últimos sistemas biológicos que estas interações desempenham um papel determinante, como por exemplo, na especificidade do emparelhamento de bases⁴⁹.

Estas ligações constituem, no contexto biológico, aproximadamente 20 a 25 % do número total de ligações de hidrogénio, podendo ser consideradas como o segundo grupo mais importante dos vários tipos de ligação de hidrogénio⁵⁰.

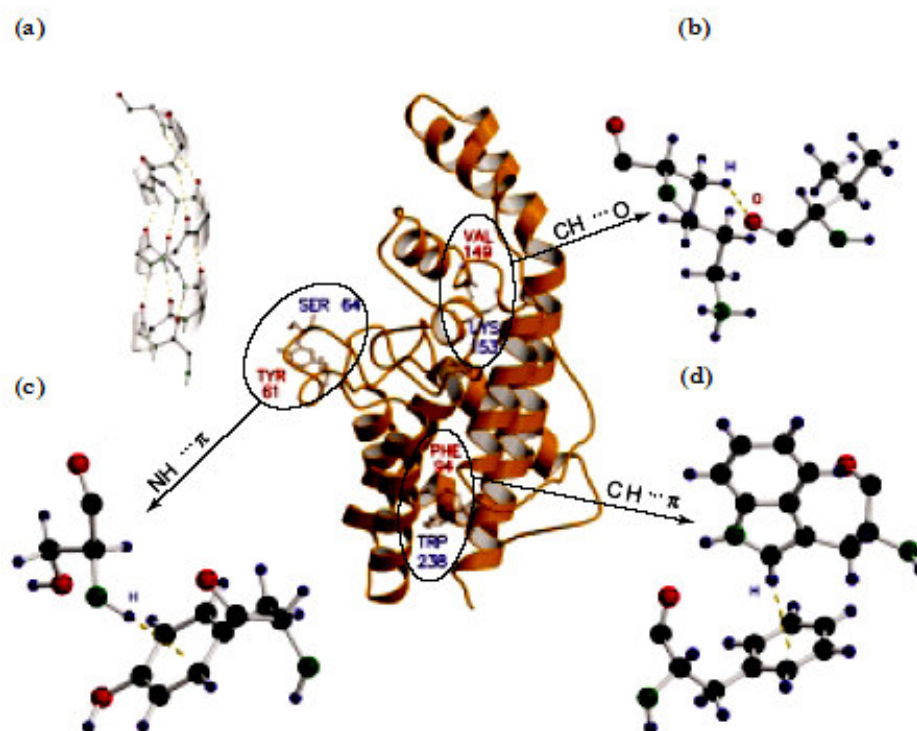


Figura I.6 – Diagrama Molscript da proteína fosfolípase⁵⁰, no qual são evidenciadas diferentes classes de ligações de hidrogénio. (a) Ligações de hidrogénio $N-H\cdots O$ como as encontradas em hélices α . (b) Ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$ entre a Lys153 e Val149. (c) Ligações $N-H\cdots\pi$ entre a Ser 64 e o anel aromático da Tyr61. (d) Ligações $C-H\cdots\pi$ entre a Trp238 e o anel aromático da Phe94.

Na maioria dos contactos $C-H\cdots O$ verificados nas estruturas das proteínas, os átomos de hidrogénio ligados ao carbono- α , bastante mais ácidos que os restantes, participam como doadores de protão na ligação de hidrogénio. Por sua vez, os oxigénios carbonílicos existentes nos filamentos adjacentes de folhas- β , constituem os aceitadores de protão mais comuns^{36,38}. Nestes casos, um dos pares de electrões do oxigénio interage com o protão $C^\alpha-H$ enquanto que o outro par interage com um protão $N-H$ (Figura I.7a). Apesar de individualmente fracas, a presença de um elevado número de ligações $C^\alpha-H\cdots O$ exerce uma enorme influência na estrutura e função da proteína.^{39,43,51}

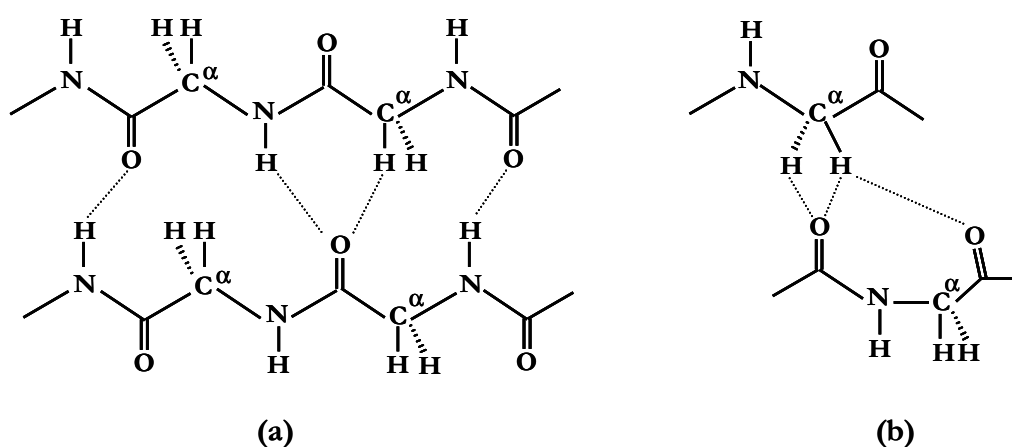


Figura I.7 – Interacções $C^\alpha-H\cdots O=C$ verificadas nas folhas- β das proteínas (a) e na tripla hélice do colagénio (b). As linhas a tracejado representam ligações de hidrogénio.

Este padrão de ligação de hidrogénio bifurcada tem sido observado em estruturas de proteínas helicoidais³⁸. Adicionalmente, a presença de uma topologia de ligação de hidrogénio bifurcada diferente da referida anteriormente pode-se observar na tripla hélice do colagénio³⁸. Nesta situação, verifica-se que os pares de electrões do oxigénio interagem com protões $C^\alpha-H$ e um dos átomos de hidrogénio é dividido entre dois oxigénios (Figura I.7b).

Os exemplos enunciados anteriormente permitem que as ligações de hidrogénio do tipo $C-H\cdots O$ sejam consideradas como importantes contributos na formação e previsão de novas e variadas estruturas cristalinas. Consequentemente, um bom conhecimento das interacções $C-H\cdots O$ é de considerável importância para a engenharia de cristais.

No contexto da ciência dos materiais, a engenharia de cristais implica a arquitectura de materiais sólidos nos quais determinados arranjos supramoleculares são associados a propriedades físicas pré-definidas. De particular interesse é a construção de materiais não

lineares ópticos (NLO), que têm como aplicações a geração de segunda harmónica (SHG) ou a modelação electro-óptica (EO).

O composto 1,3-dibromo-2,4,6-trinitrobenzeno (Figura I.8a) é um exemplo interessante neste contexto, para além do facto de representar um exemplo da utilização de ligações $C-H \cdots O$ na engenharia de cristais. Este composto é um cromóforo de transferência de carga hiperpolarizável bi-dimensional, cuja estrutura cristalina se encontra representada na Figura I.8b.

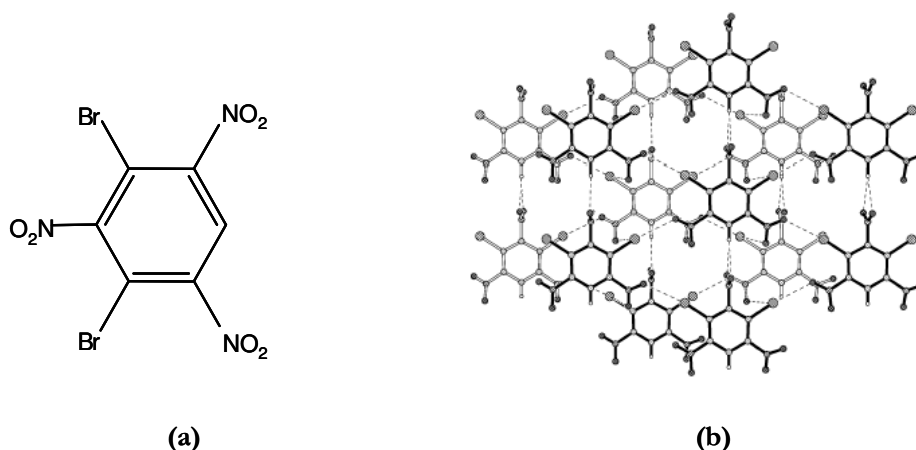


Figura I.8 – Representação esquemática da estrutura molecular do 1,3-dibromo-2,4,6-trinitrobenzeno (a) e respectiva estrutura cristalina (b), na qual se verifica a existência de ligações de hidrogénio $C-H \cdots O$ ao longo dos eixos polares⁵².

Este composto cristaliza com um grupo espacial não-centrossimétrico C2, num arranjo perfeitamente polar, o que proporciona um aumento de intensidade do sinal SHG⁵². A análise da estrutura cristalina revela a formação de camadas paralelas, no interior das quais cada cromóforo adopta um empacotamento hexagonal com um arranjo perfeitamente polar estabelecido por ligações de hidrogénio $C-H \cdots O$ bifurcadas e interações $Br \cdots O_2N$.

I.1.3 – Polimorfismo e pseudopolimorfismo: aspectos fundamentais

Os conceitos de polimorfismo e pseudopolimorfismo, independentemente do contexto em que possam ser aplicados, têm por base a existência de diferentes interações intermoleculares, particularmente ligações de hidrogénio. É precisamente neste contexto que o estudo do polimorfismo e pseudopolimorfismo se enquadra no âmbito da presente dissertação.

O polimorfismo em sólidos cristalinos^{53,54} pode ser definido como a ocorrência de diferentes empacotamentos cristalinos e/ou diferentes conformações moleculares em compostos com a mesma composição química. Pseudopolimorfismo é um termo que se refere a formas cristalinas com moléculas de solvente como parte integrante da estrutura⁵⁵. Num sentido supramolecular, o polimorfismo é a existência de mais do que um tipo de super-estrutura em rede para o mesmo bloco de construção molecular (moléculas) e o pseudopolimorfismo considera-se quando o solvente é um componente molecular da rede⁵⁶. Deste modo, o polimorfismo pode ser visto como um tipo de isomerismo supramolecular e o pseudopolimorfismo como um tipo de co-cristal¹².

No contexto das drogas farmacêuticas, estes conceitos assumem particular importância, dado que diferentes polimorfos podem ter propriedades biofarmacêuticas suficientemente distintas. Um exemplo interessante de polimorfismo baseado em ligações de hidrogénio fracas do tipo $C-H \cdots O$ é o *Nabumetone* (Figura I.9a), um anti-inflamatório, analgésico e antipirético, usualmente prescrito para doentes com artrite. Este composto cristaliza em duas formas polimórficas, a forma comercial I monoclinica com duas moléculas na célula unitária e uma segunda forma II, também monoclinica, mas com apenas uma molécula assimétrica na célula unitária. No empacotamento cristalino da forma I (Figura I.9b-topo), as ligações de hidrogénio fracas $C-H \cdots O$ dominam a estrutura cristalina. Por sua vez, várias ligações $C-H \cdots \pi$ dominam o empacotamento cristalino da forma II (Figura I.9b-base).

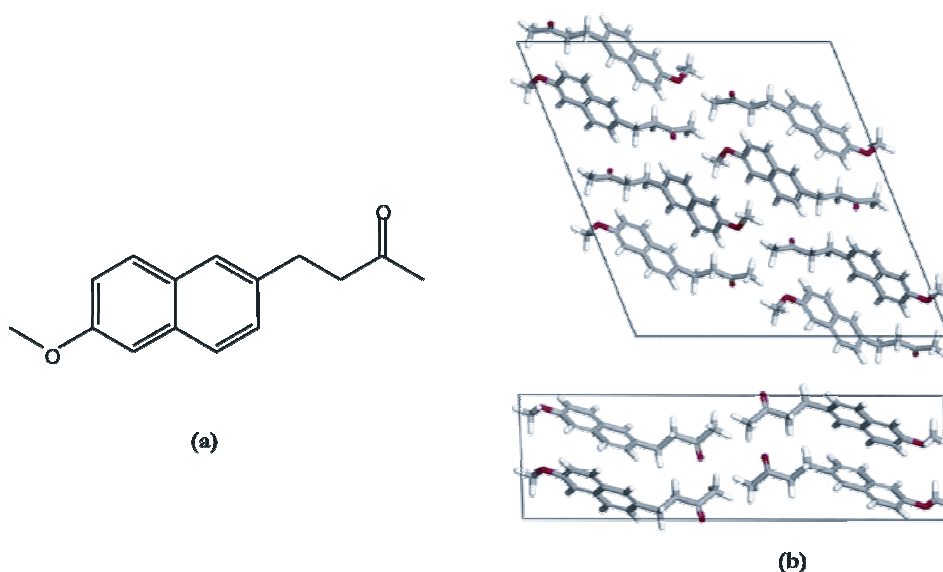


Figura I.9 – Representação esquemática da estrutura molecular do *Nabumetone* (a) e diagramas de empacotamento dos respectivos polimorfos (b) (topo: forma I, base: forma II)⁵⁷.

I.1.4 – Química hóspede-hospedeiro: compostos de inclusão em ciclodextrinas

Os compostos/complexos de inclusão constituem uma categoria especial de estruturas supramoleculares, nas quais a molécula hóspede, ou pelo menos uma parte dela, é encaixada numa cavidade da molécula hospedeira. Constituem assim uma estrutura do tipo hóspede-hospedeiro formada por um processo de inclusão molecular. Este fenómeno, no qual vários tipos de interacções intermoleculares desempenham um papel fundamental, constitui a base de um ramo da química supramolecular actualmente em expansão: a inclusão molecular.

O hóspede, de uma maneira geral, pode ser uma entidade química, atómica ou molecular, desde um simples anião inorgânico até moléculas orgânicas complexas e de grandes dimensões, tais como as hormonas e neurotransmissores ².

O hospedeiro é vulgarmente uma molécula grande ou um agregado molecular, como por exemplo uma enzima ou um composto sintético cíclico que possui uma abertura central ou cavidade de dimensões consideráveis². Entre as diversas moléculas hospedeiras, tem-se, por exemplo, os calixarenos, fulerenos, esferandos, dendrímeros, zeólitos, éteres em coroa e ciclodextrinas⁴.

A entidade molecular resultante do processo de inclusão pode ser indiferentemente intitulada de complexo de inclusão ou composto de inclusão. No entanto, o termo complexo de inclusão é mais apropriado para sistemas hóspede-hospedeiro em solução, uma vez que a característica mais importante deste sistema em solução é o equilíbrio dissociação-associação⁵⁸. Por sua vez, o sistema hóspede-hospedeiro no estado sólido é descrito por uma estrutura definida, pelo que o termo composto de inclusão é o mais adequado para o estado sólido. Tendo em consideração que na presente dissertação os sistemas hóspede-hospedeiro foram estudados no estado sólido, o enquadramento científico será feito no âmbito de compostos de inclusão, particularmente compostos de inclusão em ciclodextrinas.

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos formados por várias unidades de D-glicose interligadas por ligações glicosídicas α -1,4. As ciclodextrinas mais vulgares são constituídas por seis, sete e oito unidades de glicose, designadas por α -, β - e γ -CD, respectivamente (Figura I.10a), e que adoptam uma conformação em cadeira 4C_1 . Em consequência da ligação glicosídica α -1,4 estabelecida e da conformação adoptada, estas CDs apresentam uma estrutura em forma de um cone oco truncado (Figura I.10b).

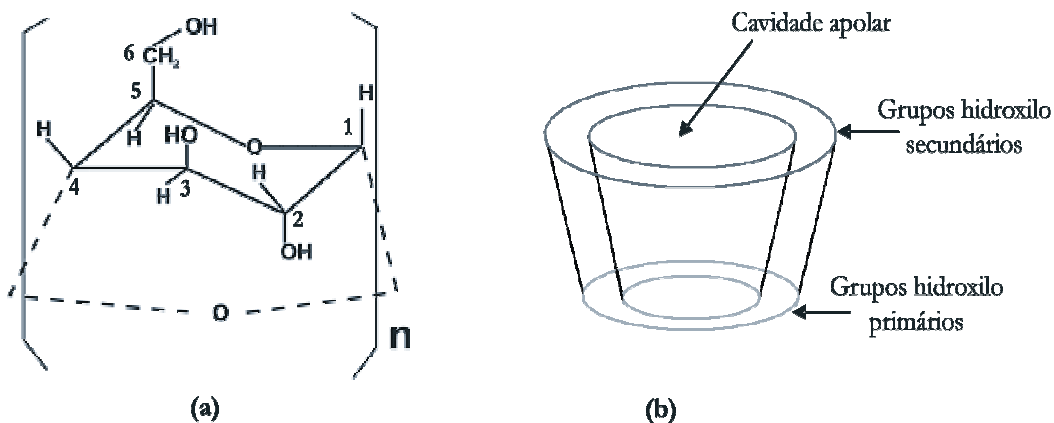


Figura I.10 – Representação estrutural (a) e esquemática (b) da α -, β - e γ -CD ($n=6, 7$ e 8 respectivamente).

Dado que todas as unidades de glicose apresentam a mesma orientação, o bordo menor do cone é formado por grupos hidroxilo primários, enquanto que o bordo maior é formado por grupos hidroxilo secundários e a cavidade central está rodeada por grupos metileno e átomos de oxigénio tipo éter. Esta disposição atribui ao interior da cavidade um carácter hidrófobo, enquanto que o exterior do macrociclo apresenta um carácter hidrófilo, permitindo que as CDs possam formar compostos de inclusão com uma grande variedade de moléculas hóspedes⁵⁹, mesmo com moléculas significativamente maiores do que a cavidade, desde que pelo menos uma parte do hóspede possua a forma, dimensão e afinidade química para se adaptar ao interior da cavidade^{58,60,61}.

Questões relacionadas com as forças motrizes envolvidas na formação dos compostos de inclusão em ciclodextrinas assumem particular importância no âmbito desta tese. No entanto, temas como o próprio mecanismo de inclusão e interações hóspede-hospedeiro de natureza não covalente (interacções de *van der Waals*, interacções electrostáticas, ligações de hidrogénio, entre outras)⁵⁸, são ainda controversos⁶²⁻⁶⁴. Por outro lado, é reconhecido que as ligações de hidrogénio estabelecidas entre o hóspede e as paredes da cavidade das ciclodextrinas desempenham um papel relevante na determinação da estrutura e propriedades dos compostos de inclusão^{20,62,65-71}. Em particular, ligações de hidrogénio do tipo $C-H \cdots O$ têm sido observadas em vários compostos de inclusão em ciclodextrinas^{34,72-81}.

Um caso interessante e pioneiro da presença de ligações de hidrogénio $C-H \cdots O$ entre a CD e o hóspede verifica-se no complexo β -CD-etanol octahidratado³⁴, no qual uma molécula de etanol e três de água se encontram enclausuradas na cavidade molecular. Na estrutura cristalina (Figura I.11), determinada por difracção de neutrões a baixa temperatura,

verifica-se a presença de numerosas ligações $C-H\cdots O$ de distâncias curtas, aproximadamente 2.4 Å, entre os hóspedes e o hospedeiro.

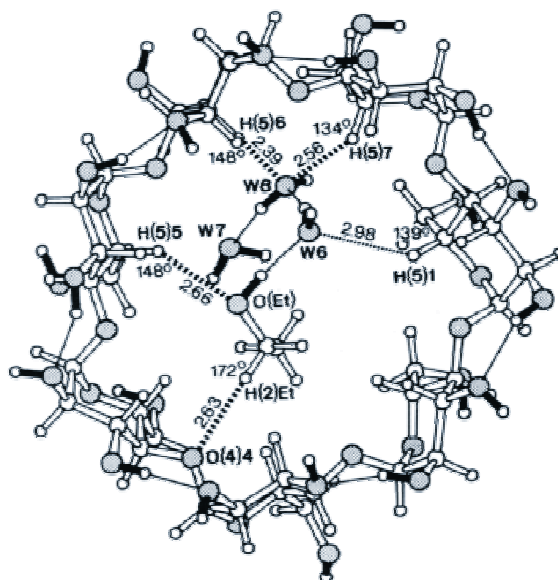


Figura I.11 – Estrutura cristalina do complexo β -CD-etanol octahidratado a 15K. Ligações de hidrogénio $O-H\cdots O$ estão representadas por linhas contínuas enquanto que as ligações $C-H\cdots O$ estão representadas pelas linhas descontínuas³⁴.

I.2 – Linhas orientadoras de investigação

I.2.1 – Métodos de estudo

No trabalho de investigação desenvolvido nesta dissertação, utilizaram-se, de forma complementar, duas técnicas: a espectroscopia vibracional (de carácter experimental) e os cálculos *ab initio* (de carácter computacional).

A combinação da espectroscopia vibracional, nas suas diversas vertentes, com os cálculos de orbitais moleculares do tipo *ab initio* assume-se de elevada importância quer no estudo de ligações de hidrogénio em fase condensada, com especial destaque para as ligações do tipo $C-H\cdots O$, quer na elucidação da estrutura molecular de alguns sistemas em estudo.

A eleição destas duas técnicas para a presente dissertação é justificada extensivamente no Capítulo II. Essencialmente, baseia-se na capacidade que a espectroscopia vibracional possui para detectar a associação de moléculas, enquanto que do ponto de vista computacional, os cálculos de orbitais moleculares do tipo *ab initio* permitem obter informação referente aos tipos de associação envolvidos, nomeadamente no que respeita à possível

estrutura de dímeros e compostos de inclusão em CDs, energia da interacção, energia de inclusão e efeito de agregação nas propriedades dos sistemas em estudo.

Os resultados experimentais obtidos por espectroscopia vibracional são apenas dados se não forem contextualizados, isto é, se não forem relacionados com um modelo estrutural que seja consistente com o espectro vibracional observado. Neste sentido, torna-se essencial o desenvolvimento de um suporte teórico robusto que permita a interpretação dos espectros vibracionais e o estabelecimento de modelos interpretativos de reactividade química, por exemplo, possível estrutura de agregados e dímeros, tendo por base observações espectroscópicas. Neste contexto, desenvolveu-se uma nova metodologia PiMM- Pares em Materiais Moleculares, que atribui um certo grau de inovação à presente dissertação. Esta nova metodologia será desenvolvida e efectivamente aplicada no Capítulo IV.

1.2.2 – Sistemas em estudo

Os sistemas em estudo na presente dissertação podem dividir-se em sistemas simples e sistemas supramoleculares. Inicialmente, procedeu-se ao estudo de ligações de hidrogénio em sistemas mais simples para que os conhecimentos adquiridos com estes sistemas pudessem ser aplicados posteriormente em sistemas mais complexos. Como exemplos de sistemas simples, isto é, moléculas simples no seu próprio meio, destacam-se a dihidrocurumina, ciclohexenona e as metil-xantinas (cafeína, teofilina e teobromina). No caso da dihidrocurumina e ciclohexenona, foi investigada a ocorrência de ligações de hidrogénio, em particular ligações $C-H \cdots O$. Relativamente às metil-xantinas, estas foram alvo de diferentes estudos. Primeiramente, foi efectuada a atribuição completa dos espectros vibracionais das metil-xantinas com base na nova metodologia PiMM. Numa segunda fase, foram abordados os efeitos do polimorfismo e pseudopolimorfismo no espectro vibracional, com consequente interpretação dos mesmos em termos da presença de diferentes ligações de hidrogénio. Adicionalmente, foram estabelecidos os mecanismos de hidratação e desidratação para a teofilina e cafeína e determinados os valores de humidade relativa crítica.

Relativamente a sistemas supramoleculares, foram preparados diferentes compostos de inclusão em ciclodextrinas. No contexto da química orgânica, foram estudados compostos de inclusão do ácido trans-cinâmico e seus derivados fenólicos em α -, β - e γ - CD, tendo-se dado particular atenção ao conhecimento das interacções hóspede-hospedeiro. No âmbito da química organometálica foram estudados os compostos de inclusão do bisciclopentadienildicloreto de nióbio (Cp_2NbCl_2) em diferentes ciclodextrinas,

particularmente em termos de modelação molecular, procurando-se, deste modo, obter informação sobre a energia e modos preferenciais de inclusão.

I.3 – Publicações científicas no âmbito da dissertação

Com base nos resultados do trabalho de investigação desenvolvido ao longo da presente dissertação foram publicados os seguintes artigos científicos:

C-H...O hydrogen bonds in cyclohexenone reveal the spectroscopic behavior of C_{sp^3} -H e C_{sp^2} -H donors
 Mariela M. Nolasco e Paulo J. A. Ribeiro-Claro
ChemPhysChem, 2005, 6, 496-502

Computationally-assisted approach to the vibrational spectra of molecular crystals: study of hydrogen-bonding and pseudo-polymorphism in theophylline, theobromine and caffeine
 Mariela M. Nolasco, Ana M. Amado e Paulo J. A. Ribeiro-Claro
ChemPhysChem, 2006, 7, 2150-2161

Probing pseudopolymorphic transitions in pharmaceutical solids using Raman spectroscopy: hydration and dehydration of theophylline
 Ana M. Amado, Mariela M. Nolasco e Paulo J. A. Ribeiro-Claro
J. Pharm. Sci., 2007, 96, 1366-1379

A combined theoretical-experimental study of the inclusion of niobocene dichloride in native and permethylated β -cyclodextrins
 Cláudia C. L. Pereira, Mariela Nolasco, Susana S. Braga, Filipe A. Almeida Paz, Paulo Ribeiro-Claro, Martyn Pillinger e Isabel S. Gonçalves
Organometallics, 2007, aceite para publicação

I.4 – Bibliografia

1. Lehn J-M 1988. Supramolecular chemistry-scope and perspectives. *Molecules, supermolecules and molecular devices*. *Angew Chem Int Ed Engl* 27:89-112.
2. Steed JW, Atwood JL 2000. *Supramolecular chemistry*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
3. Atwood JL, Davies JED, MacNicol DD, Vögtle F, Lehn J-M 1996. *Comprehensive supramolecular chemistry*. Pergamon, Oxford.
4. Dodziuk H 2002. *Introduction to supramolecular chemistry*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
5. Lehn J-M 1995. *Supramolecular chemistry: concepts and perspectives*. VCH, Weinheim.
6. Desiraju GR 1997. Designer crystals: intermolecular interactions, network structures and supramolecular synthons. *Chem Commun* 1475-1482.
7. Bürgi H-B, Hulliger J, Langley PJ 1998. Crystallisation of supramolecular materials. *Curr Opin Solid State Mater Sci* 3:425-430.
8. Gavezzotti A 1996. Organic crystals: engineering and design. *Curr Opin Solid State Mater Sci* 1:501-505.
9. Braga D, Desiraju GR, Miller JS, Orpen AG, Price SL 2002. Innovation in crystal engineering. *CrystEngComm* 4:500-509.
10. Desiraju GR 1989. *Crystal engineering: the design of organic solids*. Elsevier, Amsterdam.
11. Desiraju GR 1995. Supramolecular synthons in crystal engineering- a new organic synthesis. *Angew Chem Int Ed Engl* 34:2311-2327.
12. Desiraju GR 2001. Chemistry beyond the molecule. *Nature* 412:397-400.
13. Desiraju GR 2002. Hydrogen bridges in crystal engineering: interactions without borders. *Acc Chem Res* 35:565-573.
14. Desiraju GR 2005. C-H \cdots O and other weak hydrogen bonds. From crystal engineering to virtual screening. *Chem Commun* 2995-3001.
15. Broder CK, Davidson MG, Forsyth VT, Howard JAK, Lamb S, Mason SA 2002. On the reliability of C-H \cdots O interactions in crystal grow engineering. *Crystal Growth & Design* 2:163-169.
16. Houk KN, Menzer S, Newton SP, Raymo FM, Stoddart JF, Williams DJ 1999. [C-H \cdots O] interactions as a control element in supramolecular complexes: experimental and theoretical evaluation of receptor affinities for the binding of bipyridinium-based guests by catenated hosts. *J Am Chem Soc* 121:1479-1487.
17. Langley PJ, Hulliger J, Thaimattamb R, Desiraju GR 1998. Supramolecular synthons mediated by weak hydrogen bonding: forming linear molecular arrays via $C \equiv C - H \cdots N \equiv C$ and $C \equiv C - H \cdots O_2N$ recognition. *New J Chem* 1307-1309.
18. Laliberté D, Maris T, Wuest JD 2005. Molecular networks built from weakly interacting nitro-substituted pentaerythrityl tetraaryl ethers. *CrystEngComm* 7:158-160.
19. Thaimattamb R, Xue F, Sarma JARP, Mak TCW, Desiraju GR 2001. Inclusion compounds of tetrakis(4-nitrophenyl)methane: C-H \cdots O networks, pseudopolymorphism, and structural transformations. *J Am Chem Soc* 123:4432-4445.
20. Desiraju GR, Steiner T 1999. *The weak hydrogen bond in structural chemistry and biology*, cap.4, 293-342, Oxford University Press, Oxford.
21. van den Berg J-A, Seddon KR 2003. Critical evaluation of C-H \cdots X hydrogen bonding in the crystalline state. *Crystal Growth & Design* 3:643-661.

22. May E, Destro R, Gatti C 2001. The unexpected and large enhancement of the dipole moment in the 3,4-bis(dimethylamino)-3-cyclobutene-1,2-dione (DMACB) molecule upon crystallization: a new role of the intermolecular C-H \cdots O interactions. *J Am Chem Soc* 123:12248-12254.
23. Raymo FM, Bartberger MD, Houk KN, Stoddart JF 2001. The magnitude of [C-H \cdots O] hydrogen bonding in molecular and supramolecular assemblies. *J Am Chem Soc* 123:9264-9267.
24. Desiraju GR, Steiner T 1999. The weak hydrogen bond in structural chemistry and biology, cap.2, 29-121, Oxford University Press, Oxford.
25. Desiraju GR 1991. The C-H \cdots O hydrogen bonds in crystals: what is it? *Acc Chem Res* 24:290-296.
26. Desiraju GR 1996. The C-H \cdots O hydrogen bond: structural implications and supramolecular design. *Acc Chem Res* 29:441-449.
27. Desiraju GR, Sharma CVKM 1991. C-H \cdots O hydrogen bonding and topochemistry in crystalline 3,5-dinitrocinnamic acid and its 1:1 donor-acceptor complex with 2,5-dimethoxycinnamic acid. *J Chem Soc Chem Commun* 1239-1241.
28. Desiraju GR, Murty BN, Kishan KVR 1990. Unexpected hydrogen bonding in the crystal structure of (4-chlorophenyl)propionic acid. Role of C-H \cdots O hydrogen bonds in determining O-H \cdots O networks. *Chem Mater* 2:447-449.
29. Thallapally PK, Katz AK, Carrell HL, Desiraju GR 2002. Unusually long cooperative chain of seven hydrogen bonds. An alternative packing type for symmetrical phenol. *Chem Commun* 344-345.
30. Braga D, Grepioni F 1996. Intermolecular interactions and supramolecular organization in organometallic solids. *Chem Commun* 571-578.
31. Steiner T, Lutz B, van der Maas J, Schreurs AMM, Kroon J, Matthias T 1998. Very long C-H \cdots O contacts can be weak hydrogen bonds: experimental and evidence from crystalline [Cr(CO) $_3$] $\{\eta^6$ -[7-*exo*-(C \equiv CH) $_7$ C $_7$ H $_7$]. *Chem Commun* 171-172.
32. Braga D, Grepioni F, Biradha K, Pedireddi VR, Desiraju GR 1995. Hydrogen bonding in organometallic crystals. 2. C-H \cdots O hydrogen bonds in bridged and terminal first-row metal carbonyls. *J Am Chem Soc* 117:3156-3166.
33. Desiraju GR, Steiner T 1999. The weak hydrogen bond in structural chemistry and biology, cap.5, 343-440, Oxford University Press, Oxford.
34. Steiner T, Saenger W 1992. Geometry of C-H \cdots O hydrogen bonds in carbohydrate crystal structures. Analysis of neutron diffraction data. *J Am Chem Soc* 114:10146-10154.
35. Derewenda ZS, Derewenda U, Kobos PM 1994. (His)C-H \cdots O=C hydrogen bond in the active sites of serine hydrolases. *J Mol Biol* 241:83-93.
36. Derewenda ZS, Lee L, Derewenda U 1995. The occurrence of C-H \cdots O hydrogen bonds in proteins. *J Mol Biol* 252:248-262.
37. Steiner T 1995. Water molecules which apparently accept no hydrogen bonds are systematically involved in C-H \cdots O interactions. *Acta Cryst D* 51:93-97.
38. Bella J, Berman HM 1996. Crystallographic evidence for C-H \cdots O=C hydrogen bonds in a collagen triple helix. *J Mol Biol* 264:734-742.
39. Wahl MC, Sundaralingam M 1997. C-H \cdots O hydrogen bonding in biology. *Trends Biochem Sci* 22:97-102.
40. Auffinger P, Westhof E 1997. Rules governing the orientation of the 2'-hydroxyl group in RNA. *J Mol Biol* 274:54-63.
41. Brandl M, Lindauer K, Meyer M, Sühnel M 1999. CH \cdots O and CH \cdots N interactions in RNA structures. *Theor Chem Acc* 101:103-113.

42. Vargas R, Garza J, Dixon DA, Hay BP 2000. How strong is the C^α-H···O=C hydrogen bond? *J Am Chem Soc* 122:4750-4755.
43. Scheiner S, Kar T, Gu YL 2001. Strength of the C^α-H···O=C hydrogen bond of amino acid residues. *J Biol Chem* 276:9832-9837.
44. Jiang L, Lai L 2002. C-H···O hydrogen bonds at protein-protein interfaces. *J Biol Chem* 277:37732-37740.
45. Shi ZS, Olson CA, Bell AJ, Kallenbach NR 2002. Non-classical helix-stabilizing interactions: C-H···O H-bonding between Phe and Glu side chains in α-helical peptides. *Biophys Chem* 101:267-279.
46. Petrella RJ, Karplus M 2004. The role of carbon-donor hydrogen bonds in stabilizing tryptophan conformations. *Proteins* 54:716-726.
47. Thakur AK, Kishore R 2006. Characterization of β-turn and Asx-turns mimicry in a model peptide: stabilization via C-H···O interaction. *Biopolymers* 81:440-449.
48. Shi ZS, Olson CA, Bell AJ, Kallenbach NR 2001. Stabilization of α-helix structure by polar side-chain interactions: complex salt bridges, cation-π interactions, and C-H···O H-bonds. *Biopolymers* 60:366-380.
49. Wahl MC, Rao ST, Sundaralingam M 1996. The structure of r(UUCGCG) has a 5'-UU-overhang exhibiting Hoogsteen-like trans U.U base pairs. *Nat Struct Biol* 3:24-31.
50. Weiss SM, Brandl M, Sühnel J, Pal D, Hilgenfeld R 2001. More hydrogen bonds for the (structural) biologist. *Trends Biochem Sci* 26:521-523.
51. Musah RA, Jensen GM, Rosenfeld RJ, McRee DE, Goodin DB 1997. Variation in strength of an unconventional C-H to O hydrogen bond in an engineered protein cavity. *J Am Chem Soc* 119:9083-9084.
52. Thallapally PK, Desiraju GR, Bagieu-Beucher M, Masse R, Bourgonne C, Nicoud J-F 2002. 1,3-Dibromo-2,4,6-trinitrobenzene (DBTNB). Crystal engineering and perfect polar alignment of two-dimensional hyperpolarizable chromophores. *Chem Commun* 1052-1053.
53. Bernstein J, Davey RJ, Henck JO 1999. Concomitant polymorphs. *Angew Chem Int Ed Engl* 38:3440-3461.
54. Vippagunta SR, Brittain HG, Grant DJW 2001. Crystalline solids. *Adv Drug Del Rev* 48:3-26.
55. Nangia A, Desiraju GR 1999. Pseudopolymorphism: occurrences of hydrogen bonding organic solvents in molecular crystals. *Chem Commun* 605-606.
56. Moulton B, Zaworotko MJ 2001. From molecules to crystal engineering: supramolecular isomerism and polymorphism in network solids. *Chem Rev* 101:1629-1658.
57. Rodríguez-Spong B, Price CP, Jayasankar A, Matzger AJ, Rodríguez-Hornedo N 2004. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective. *Adv Drug Del Rev* 56:241-274.
58. Szejtli L., 1996, editado por Szejtli L. e Osa T. em: Atwood J. E., Davies J. E. D., MacNiol D. D., Vögtle F., Lehn J.-M., *Comprehensive supramolecular chemistry*, vol.3, cap.5, 189-203, Pergamon, Oxford.
59. Fenyvesi, É., Szente L., Russel N.R., McNamara M. , 1996, editado por Szejtli L. e Osa T. em: Atwood J. E., Davies J. E. D., MacNiol D. D., Vögtle F., Lehn J.-M., *Comprehensive supramolecular chemistry*, vol.3, cap.10, 305-366, Pergamon, Oxford.
60. Saenger W, Jacob J, Gessler K, Steiner T, Hoffmann D, Sanbe H, Koizumi K, Smith SM, Takaha T 1998. Structures of the common cyclodextrins and their larger analogues-beyond the doughnut. *Chem Rev* 98:1787-1802.
61. Harata K 1998. Structural aspects of stereodifferentiation in the solid state. *Chem Rev* 98:1803-1827.

62. Liu L, Guo Q-X 2002. The driving forces in the inclusion complexation of cyclodextrins. *J Incl Phenom Macro Chem* 42:1-14.
63. Auletta T, De Jong MR, Mulder A, van Veggel FCJM, Huskens J, Reinhoudt DN, Zou S, Zapotoczny S, Schönherr H, Vancso GJ, Kuipers L 2004. β -cyclodextrin host-guest complexes probed under thermodynamic equilibrium: thermodynamics and AFM force spectroscopy. *J Am Chem Soc* 126:1577-1584.
64. Bodor N, Buchwald P 2002. Theoretical insights into the formation, structure, and energetics of some cyclodextrin complexes. *J Incl Phenom Macro Chem* 44:9-14.
65. Aree T, Jacob J, Saenger W, Hoier H 1998. Crystal structure of α -cyclodextrin-acetonitrile-hexahydrate. *Carbohydrate Res* 307:191-197.
66. Nishio M 2004. CH/ π hydrogen bonds in crystals. *CrystEngComm* 6:130-158.
67. Tsorteki F, Bethanis K, Mentzafos D 2004. Structure of the inclusion complexes of heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin with indole-3-butyric acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Carbohydrate Res* 339:233-240.
68. Saenger W, Steiner T 1998. Cyclodextrin inclusion complexes: host-guest interactions and hydrogen-bonding networks. *Acta Cryst A* 54:798-805.
69. Ross PD, Rekharsky MV 1996. Thermodynamics of hydrogen bond and hydrophobic interactions in cyclodextrin complexes. *Biophys J* 71:2144-2154.
70. Johnson MD, Bernard JG 1996. Hydrogen bonding effects on the cyclodextrin encapsulation of transition metal complexes: 'molecular snaps'. *Chem Commun* 185-186.
71. Rekharsky MV, Inoue Y 1998. Complexation thermodynamics of cyclodextrins. *Chem Rev* 98:1875-1917.
72. Steiner T, Saenger W 1995. Weak polar host-guest interactions stabilizing a molecular cluster in a cyclodextrin cavity: C-H \cdots O and C-H $\cdots\pi$ contacts in β -cyclodextrin-but-2-yne-1,4-diol heptahydrate. *Chem Commun* 2087-2088.
73. Ribeiro-Claro PJA, da Costa AMA, Vueba ML, Pina ME, Amado AM 2006. Parahalogenated benzaldehyde molecules included in cyclodextrins: a combined spectroscopic and thermal analysis. *J Raman Spectrosc* 37:472-479.
74. Amado AM, Ribeiro-Claro PJA 2000. Selection of substituted benzaldehyde conformers by the cyclodextrin inclusion process: a Raman spectroscopic study. *J Raman Spectrosc* 31:971-978.
75. Steiner T, Koellner G, Gessler K, Saenger W 1995. Isostructural replacement of an N-H \cdots O by a C-H \cdots O hydrogen bond in complex stabilisation: crystal structures of β -cyclodextrin complexed with diethanolamine and with pentane-1,5-diol. *Chem Commun* 511-512.
76. Brett TJ, Alexander JM, Stezowski JJ 2000. Chemical insight from crystallographic disorder-structural studies of supramolecular photochemical systems. Part 2. The β -cyclodextrin-4,7-dimethylcoumarin inclusion complex: a new β -cyclodextrin dimer packing type, unanticipated photoproduct formation, and an examination of guest influence on β -CD dimer packing. *J Chem Soc, Perkin Trans 2*:1095-1103.
77. Steiner T, Saenger W 1993. Role of C-H \cdots O hydrogen bonds in the coordination of water molecules. Analysis of neutron diffraction data. *J Am Chem Soc* 115:4540-4547.
78. Kokkinou A, Makedonopoulou S, Mentzafos D 2000. The crystal structure of the 1:1 complex of β -cyclodextrin with trans-cinnamic acid. *Carbohydrate Res* 328:135-140.
79. Braga SS, Gonçalves IS, Ribeiro-Claro PJA, Lopes AD, Pillinger M, Teixeira-Dias JJC, Rocha J, Romão CC 2002. Encapsulation of cyano(cyclopentadienyl) complexes of iron with β -cyclodextrin. *Supramol Chem* 14:359-366.

80. Fernandes JA, Lima S, Braga SS, Pillinger M, Rodriguez-Borges JE, Ribeiro-Claro PJA, Teixeira-Dias JJC, Gonçalves IS 2005. Experimental and theoretical study of the encapsulation of a linear oligo(ferrocenylsilane) trimer with β -Cyclodextrin. Eur J Inorg Chem 4729-4734.
81. Fernandes JA, Lima S, Braga SS, Ribeiro-Claro P, Rodriguez-Borges JE, Teixeira C, Pillinger M, Teixeira-Dias JJC, Gonçalves IS 2005. Inclusion complex formation of diferrocenyldimethylsilane with β -cyclodextrin. J Organomet Chem 690:4801-4808.

Capítulo II

Ligações de hidrogénio: aplicabilidade da espectroscopia vibracional e dos cálculos ab initio

*“Não existe nada
além de átomos e espaços vazios
o resto não passa de opinião”*

Demócrito

ÍNDICE

Capítulo II

*Ligações de hidrogénio: aplicabilidade da espectroscopia vibracional e dos cálculos *ab initio** 23

RESUMO	25
II.1 – Ligação de hidrogénio: introdução	26
II.1.1 – Definição	26
II.1.2 – Classificação	27
II.1.3 – Relação entre parâmetros geométricos e energéticos	28
II.1.4 – Interações constituintes da ligação de hidrogénio	29
II.2 – Técnicas de estudo	30
II.2.1 – Experimentais: espectroscopia vibracional	31
II.2.2 – Computacionais: cálculos de orbitais moleculares do tipo <i>ab initio</i>	36
II.3 – Aplicação da espectroscopia vibracional	39
II.3.1 – Propriedades espectroscópicas da banda de elongação <i>X-H</i>	42
II.3.2 – Correlações entre parâmetros estruturais e vibracionais	43
II.3.3 – Estudos de diluição e de variação de temperatura	44
II.3.4 – Estudo de interações hóspede-hospedeiro	48
II.4 – Aplicação dos cálculos <i>ab initio</i>	49
II.5 – Bibliografia	51

RESUMO

No estudo de ligações de hidrogénio, a conjugação de cálculos de orbitais moleculares do tipo *ab initio* com técnicas de espectroscopia vibracional justificou-se ser de grande importância. A espectroscopia vibracional, nas várias vertentes, apresenta uma elevada sensibilidade no estudo de ligações de hidrogénio pela capacidade que possui para detectar a associação de moléculas. Complementarmente, a utilização de cálculos *ab initio* permite obter informação referente aos processos de auto-associação molecular por ligações de hidrogénio, em termos de energia e geometria, possibilitando assim uma caracterização completa da ligação de hidrogénio em estudo.

A aplicação de uma nova metodologia PiMM – Pares em Materiais Moleculares, proporciona um suporte teórico robusto para a interpretação dos espectros vibracionais, por comparação do espectro vibracional previsto teoricamente por cálculos *ab initio* com o obtido experimentalmente. Adicionalmente, auxilia na previsão de possíveis contactos intermoleculares, dos quais se destacam as ligações de hidrogénio, quando não se tem conhecimento dos mesmos por difracção de raios-X.

No estudo de compostos de inclusão em ciclodextrinas, a comparação do espectro vibracional do hospedeiro puro com o obtido para o composto hóspede-hospedeiro permite obter informações sobre as interacções existentes entre estes. Em termos de modelação molecular, os cálculos *ab initio* permitem obter informação sobre a energia e os modos preferenciais de inclusão.

II.1 – Ligação de hidrogénio: introdução

O estudo da ligação de hidrogénio, termo provavelmente utilizado pela primeira vez por *Pauling* no seu artigo sobre a natureza da ligação química¹, teve um período de estagnação em 1980, mas a partir de 1990 este tema tornou-se um dos tópicos de maior importância em investigação científica². A razão para este crescente interesse centra-se principalmente no papel que as ligações de hidrogénio desempenham na estrutura, função e dinâmica de um vasto número de sistemas químicos. Das várias interacções intermoleculares existentes, a ligação de hidrogénio é uma das mais abundantes³, especialmente em processos dinâmicos que envolvam reacções bioquímicas⁴. As áreas científicas envolvidas são muito diversas, podendo-se incluir a mineralogia, a ciência dos materiais, a química inorgânica e orgânica, a química supramolecular, a bioquímica e a medicina molecular.

II.1.1 – Definição

De uma maneira simples, a ligação de hidrogénio pode ser considerada como uma interacção aceitador-doador envolvendo especificamente um átomo de hidrogénio⁵. Esta interacção pode envolver dois grupos da mesma molécula (intramolecular) ou de moléculas diferentes (intermolecular), um dos quais serve como doador de protão ($X-H$) e o outro como aceitador (Y), podendo a ligação formada ser representada por $X-H\cdots Y-Z$ (em que Z representa o átomo ligado covalentemente a Y).

Historicamente, a descrição da ligação de hidrogénio como uma interacção puramente electrostática é atribuída a *Pauling*⁶ (1939), que considerava que apenas quando os átomos X e Y fossem bastante electronegativos poderiam desblindar o átomo de hidrogénio, tornando-se assim a atracção electrostática entre H e Y suficientemente elevada para que a interacção se pudesse considerar ligação de hidrogénio. Neste contexto e em termos práticos, o fenómeno da ligação de hidrogénio seria restringido a interacções $X-H\cdots Y$, nas quais o X e Y poderiam ser apenas os elementos F , O , Cl , N , Br e I . Em 1960, *Pimentel* e *McLellan*³ apresentaram uma definição mais ampla de ligação de hidrogénio: “uma ligação de hidrogénio existe se 1) houver evidência de uma ligação e 2) existe evidência de que esta envolve estericamente um átomo de hidrogénio, já ligado a outro átomo”. Esta definição não estabeleceu contudo nenhuma conjectura acerca da natureza dos participantes X e Y , permitindo assim que grupos doadores (covalentemente ligados), por exemplo $C-H$, $P-H$ ou outro e que aceptadores do tipo N , S , O , halogéneo ou electrões π ,

pudessem participar em ligações de hidrogénio. No entanto, o dogma clássico permaneceu sempre a favor de uma interacção puramente electrostática.

Apenas pela obtenção de evidências experimentais inequívocas da existência de ligações de hidrogénio envolvendo grupos aceitadores e doadores de vários tipos^{8,9}, foi possível reconsiderar a linha de pensamento existente, permitindo deste modo que ligações de hidrogénio fracas, como do tipo $C-H\cdots O$, fossem posteriormente aceites como tal.

Em 1993, *Steiner* e *Saenger*¹⁰ apresentaram um refinamento da teoria apresentada por *Pimentel* e *McLellan*, classificando então as ligações de hidrogénio como uma interacção coesiva entre $X-H\cdots Y$, na qual o átomo de hidrogénio possui uma carga positiva, Y uma carga negativa (parcial ou total) e X uma carga mais negativa que a do hidrogénio (para doadores de protão $C-H$, a carga parcial no átomo de carbono pode ser aproximadamente zero ou ligeiramente positiva). Contudo, esta definição é ainda incompleta no sentido de considerar apenas o carácter electrostático da ligação de hidrogénio.

II.1.2 – Classificação

Dependendo da natureza dos grupos aceitadores e doadores envolvidos, as ligações de hidrogénio podem classificar-se em muito fortes, fortes e fracas. Quando os aceitadores e doadores estão activados devido a factores intramoleculares (elevado carácter iónico, átomos muito electronegativos, entre outros), as ligações designam-se por ligações de hidrogénio muito fortes. Estas ligações apresentam uma energia de ligação entre 15 e 40 kcal/mol (63-167 kJ/mol)⁷, sendo um exemplo a ligação $(F\cdots H\cdots F)^-$. Ligações de hidrogénio fortes, também denominadas por convencionais, são formadas geralmente por grupos doadores e aceitadores neutros, nos quais o átomo doador é electronegativo relativamente ao hidrogénio (*e.g.* $O-H$, $N-H$) e o átomo aceitador possui um par de electrões não compartilhado. Apresentam uma energia de ligação entre 4 e 15 kcal/mol (17-63 kJ/mol)⁷, sendo um exemplo a ligação $O-H\cdots O$. No caso das ligações de hidrogénio fracas ou não-convencionais, o átomo de hidrogénio encontra-se ligado covalentemente a um átomo de baixa electronegatividade (*e.g.* $C-H$, $Si-H$) e o grupo aceitador possui electrões não compartilhados ou electrões π . Caracterizam-se por possuírem baixa energia de ligação, de valores inferiores a 4 kcal/mol (17 kJ/mol)⁷. Podem ocorrer entre doador fraco-aceitador forte (*e.g.* $C-H\cdots O$), doador forte-aceitador fraco (*e.g.* $N-H\cdots Co$) ou entre doador fraco-aceitador fraco (*e.g.* $C-H\cdots \pi$). Apesar

destas ligações possuírem baixa energia de ligação, os seus efeitos na estrutura cristalina são tão determinantes como os efeitos das ligações de hidrogénio convencionais¹¹.

II.1.3 – Relação entre parâmetros geométricos e energéticos

A ligação de hidrogénio $X-H\cdots Y-Z$ pode ser caracterizada, para além de energeticamente, em termos geométricos. De maneira a poder explicar melhor o arranjo espacial das ligações de hidrogénio, estas são descritas em termos de cinco parâmetros geométricos que representam a distância entre X e H (r), a distância entre H e Y (d), a distância entre X e Y (D), o ângulo entre X , H e Y (θ) e o ângulo entre H , Y e um quarto átomo Z (ϕ) (Figura II.1).

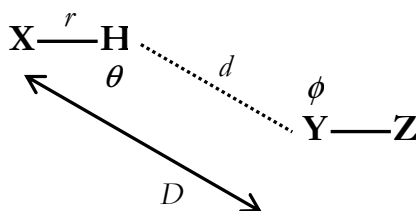


Figura II.1 – Definição dos parâmetros geométricos r , d , D , θ e ϕ para uma ligação de hidrogénio⁷.

As ligações de hidrogénio podem ser consideradas muito fortes, fortes e fracas, atendendo aos valores apresentados pelos parâmetros geométricos mais utilizados, r , d e θ , por serem os que envolvem o átomo de hidrogénio. Assim sendo, nas ligações de hidrogénio muito fortes, os parâmetros r e d têm aproximadamente o mesmo valor e θ é normalmente próximo de 180° .⁷ No caso das ligações de hidrogénio fortes, o parâmetro d é superior ao parâmetro r e θ assume valores entre 130 e 180° .⁷ Nas ligações de hidrogénio fracas, o parâmetro d é muito superior ao parâmetro r e θ assume valores entre 90 e 180° .⁷

O perfil da energia potencial em função da distância d encontra-se representado esquematicamente na Figura II.2. Os termos “atração” e “repulsão” representam forças enquanto que os termos “estabilizante” e “destabilizante” representam energias. Em termos energéticos, verifica-se que a energia é mínima para a distância de equilíbrio d_0 , é negativa para todas as distâncias $d > d_0$ e também para distâncias um pouco menores que d_0 , e é positiva apenas para distâncias muito curtas. A linha de energia correspondente à energia zero separa o que se pode chamar de regiões estabilizantes ($E < 0$) e destabilizantes ($E > 0$). Em termos de

forças, verifica-se que para a distância de equilíbrio d_0 , a força é zero. Para distâncias $d \neq d_0$, surge uma força que tenta estabelecer uma geometria óptima para o sistema. Para distâncias $d > d_0$ esta força é atractiva enquanto que para $d < d_0$ é repulsiva. A força atractiva mais forte ocorre no ponto de inflexão da curva. A força repulsiva torna-se superior à medida que a distância d se torna mais pequena. A curvatura no ponto mínimo corresponde à constante de força.

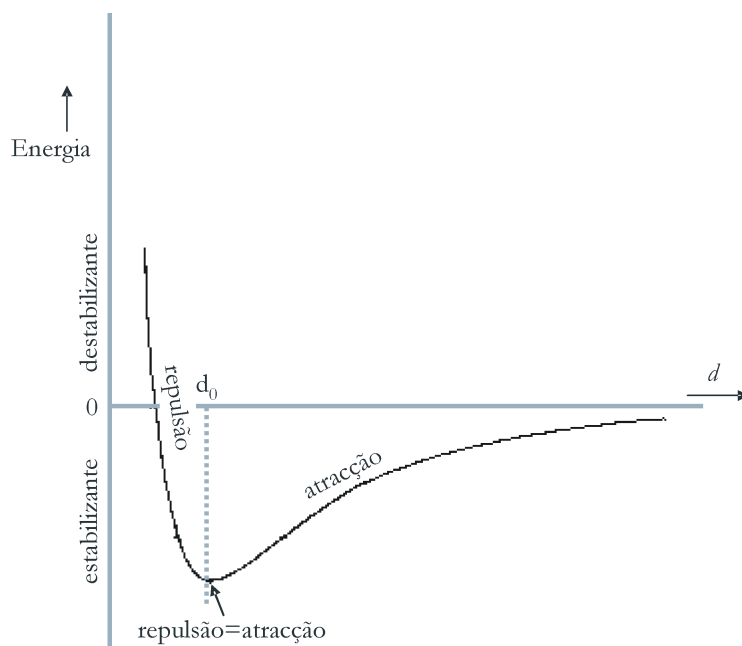


Figura II.2 – Representação esquemática da energia potencial em função da distância d .

Dado que quanto mais estreito for o mínimo maior é a constante de força, verifica-se que ligações de hidrogénio com diferentes combinações doador-aceitador originam diferentes curvas de energia potencial. Ligações de hidrogénio fracas, tais como as $C-H \cdots O$, são caracterizadas por curvas de energia potencial pouco profundas e distâncias de equilíbrio d_0 elevadas. Por sua vez, para as ligações de hidrogénio fortes, como por exemplo as $O-H \cdots O$, a curva de energia potencial é bastante profunda e a distância de equilíbrio d_0 é reduzida.

II.1.4 – Interações constituintes da ligação de hidrogénio

A ligação de hidrogénio é uma interacção complexa que não pode ser descrita apenas pela energia electrostática ou por forças de dispersão, considerando-se composta por vários constituintes, diferentes na sua natureza⁵.

Os modelos de partição, que essencialmente seguem os utilizados por *Umeyama* e *Morokuma*¹², são os mais populares. Nestes modelos, a ligação de hidrogénio é decomposta em vários termos que representam interações individuais de magnitude similar: a energia de *Coulomb* ou electrostática (ΔE_{COU}), energia de troca (ΔE_{EX}), energia de polarização (ΔE_{POL}), energia de transferência de carga (ΔE_{CHT}) e forças de dispersão (ΔE_{DIS}). Dos vários termos, apenas a energia de troca é repulsiva¹³, enquanto que os outros termos mantêm-se atractivos para qualquer distância.

As várias contribuições podem ser agrupadas em termos direccionais ou termos não direccionais (isotrópicos). Os termos isotrópicos são a energia de troca e de dispersão, cujo somatório é vulgarmente designado por interacção de *van der Waals*. À medida que as ligações de hidrogénio se tornam cada vez mais fracas, a dificuldade em distingui-las de interações de *van der Waals* torna-se relevante, tendo este facto sido discutido extensivamente por *Steiner* e *Desiraju*¹⁴.

Variações químicas, quer do doador e/ou aceitador de protão, quer do próprio ambiente circundante, podem gradualmente transformar a ligação de hidrogénio noutro tipo de interacção. A transição para uma interacção de *van der Waals* pura é muito comum. A polaridade do doador $X-H$ ou do aceitador Y (ou de ambos) ao ser reduzida, pela variação quer do X quer do Y , provoca a redução da componente electrostática da interacção enquanto que a componente de *van der Waals* é muito menos afectada, possibilitando assim a transição. Este comportamento foi, por exemplo, demonstrado na direccionalidade da interacção $C-H \cdots O=C$,¹⁴ que gradualmente desaparece quando o doador de protão varia ao longo da série $C \equiv C-H$, $C=CH_2$, $C-CH_3$, isto é com a diminuição da polarização do doador $C-H$.

II.2 – Técnicas de estudo

No presente Capítulo pretende-se evidenciar a aplicabilidade da espectroscopia vibracional e dos cálculos *ab initio* no estudo de ligações de hidrogénio. Assim sendo, apresenta-se seguidamente uma descrição geral das várias técnicas utilizadas em espectroscopia vibracional, nomeadamente a espectroscopia de difusão de Raman, de absorção no Infravermelho e de difusão inelástica de neutrões, bem como algumas considerações sobre cálculos de orbitais moleculares do tipo *ab initio*.

II.2.1 – Experimentais: espectroscopia vibracional

Na técnica de espectroscopia vibracional pode observar-se a absorção e/ou a difusão do feixe de radiação electromagnética pela amostra. Uma vez que a energia vibracional das moléculas pode variar até 60 kJ/mol¹⁵, a absorção da radiação ocorre na zona do infravermelho – daí a designação “espectroscopia de Infravermelho”. Quando se verifica a difusão do feixe, usualmente na zona visível, como resultado de uma colisão inelástica entre o fóton e a molécula, a técnica é denominada por espectroscopia de Raman. Deste modo, distinguem-se dois tipos de espectroscopia vibracional, a de Infravermelho e a de Raman, que apesar de se relacionarem ambas com vibrações moleculares, apresentam mecanismos básicos de sondagem das vibrações essencialmente distintos.

Para que ocorra absorção da radiação infravermelha é necessário que haja alteração do momento dipolar eléctrico da molécula, como consequência do seu movimento vibracional. Apenas nestas condições e uma vez que a interacção da radiação electromagnética com a matéria é normalmente dominada pela interacção com um campo eléctrico, este interage com a molécula, dando origem ao espectro. Dado que em espectroscopia vibracional se consideram as transições entre os estados vibracionais quantizados, pode-se afirmar que o espectro de absorção no infravermelho é obtido quando a radiação electromagnética incidente tem uma componente com uma frequência correspondente a uma transição entre dois níveis vibracionais.

Existem várias técnicas utilizadas em espectroscopia de Infravermelho, nomeadamente a espectroscopia de Absorção e a espectroscopia de Reflexão, na qual se incluem as técnicas de Reflectância Difusa e de Reflectância Total Atenuada.

Na espectroscopia de Absorção, os fótons da radiação electromagnética são absorvidos pela molécula quando possuem energia apropriada, isto é, energia correspondente à diferença entre o estado fundamental e um nível excitado da molécula. Após a absorção, a molécula volta para o estado fundamental, relaxando a energia para a rede.

A espectroscopia de Reflexão Interna ou Reflectância Total Atenuada (sigla em inglês ATR) é uma técnica utilizada na obtenção de espectros no infravermelho de amostras que não possam ser analisadas por técnicas normais, nomeadamente por apresentarem problemas de saturação.

O princípio deste tipo de espectroscopia baseia-se no facto de ocorrer uma reflexão quando um feixe de radiação passa de um meio mais denso, por exemplo cristal de diamante, para um meio menos denso, amostra. A fracção do feixe de luz incidente que é reflectida

aumenta com o aumento do ângulo de incidência, de tal modo que para um determinado ângulo crítico a reflexão é total. No ponto de reflexão verifica-se a incidência do feixe dentro da amostra. Quando a amostra absorve o feixe, ocorre o enfraquecimento deste a comprimentos de onda correspondentes às bandas de absorção no infravermelho.

A espectroscopia de Raman tem como base o efeito designado por efeito de Raman, teoricamente previsto por *Smekal* em 1923 e demonstrado experimentalmente pelo físico indiano *C.V. Raman* em 1928. Este descobriu que quando se irradiava moléculas com luz monocromática, uma fracção dessa luz era difundida, verificando-se nessa fracção uma componente de frequência igual à da radiação incidente na amostra. Esse processo, denominado por efeito de *Rayleigh*, pode ser explicado por uma colisão elástica entre o fóton incidente e a molécula, com obtenção de um fóton difundido com frequência igual à do incidente. No entanto, para uma pequena parte da luz difundida verificava-se a difusão com alteração da frequência (efeito de Raman), o que pode ser explicado por uma colisão inelástica entre o fóton e a molécula, com a obtenção de um fóton difundido com frequência diferente da do fóton incidente.

Os processos de colisão inelástica fóton-molécula dão origem às bandas de Raman. A diferença entre as novas frequências, bandas de Raman, e a frequência original é característica da molécula irradiada e é idêntica a certas frequências vibracionais. Para que um determinado modo vibracional seja activo em Raman, a polarizabilidade da molécula deve variar durante a vibração.

Usualmente a investigação espectroscópica da presença de ligações de hidrogénio é feita na gama do infravermelho médio ($4000\text{--}200\text{ cm}^{-1}$)⁵. No entanto, informações importantes tais como a observação experimental do modo de elongação $H\cdots Y$ não se podem obter nesta gama, sendo necessário recorrer-se ao uso da espectroscopia de Infravermelho distante ($200\text{--}10\text{ cm}^{-1}$)⁵ para tentar observar esse modo.

No entanto, tendo em conta as dificuldades verificadas na detecção, por espectroscopia de Infravermelho distante e de Raman, dos modos vibracionais de baixa frequência (dado o carácter fraco das bandas associadas), torna-se conveniente recorrer ao uso de uma técnica de espectroscopia vibracional menos comum, uma vez que apenas se encontra disponível em instalações de nível internacional: a difusão inelástica de neutrões (sigla em inglês INS).

Esta técnica apresenta capacidades únicas na resolução desta limitação, uma vez que permite não só o estudo dos modos de baixa frequência bem como evidencia aqueles em que os átomos de hidrogénio participam directamente. Actualmente a técnica de INS tem sido aplicada de maneira a obter informações mais precisas sobre aspectos estruturais e dinâmicos de ligações de hidrogénio.

Nesta técnica, recorre-se ao uso de neutrões para provocar vibrações moleculares ou transições rotacionais, obtendo-se o espectro vibracional pela diferença de energia entre o neutrão incidente e o difundido.

A elevada versatilidade desta técnica é derivada, em grande parte, pela utilização de neutrões como fonte de excitação. Esta característica permite diferenciar a espectroscopia de neutrões (INS) da espectroscopia de Raman, na qual a amostra também é excitada por um processo de difusão inelástica, mas cuja fonte de excitação é o laser.

Os neutrões são partículas de massa 1.009 u.m.a, não carregadas e que possuem momento magnético, podendo ser difundidos elasticamente e inelasticamente a partir de centros magnéticos. Dado que o núcleo de um átomo é apenas 1/1000 do diâmetro atómico, os neutrões interactivam fracamente com a matéria e, conseqüentemente, são altamente penetrantes.

O facto dos neutrões terem massa permite, que no processo de difusão, ocorram transferências de energia (E em cm^{-1}) e de momento (Q em \AA^{-1}), que podem ser descritas, respectivamente, pelas expressões

$$E_T = E_i - E_f \quad (1)$$

$$Q = k_i - k_f \quad \text{com} \quad k = \frac{2\pi}{\lambda} \quad (2)$$

em que k é o vector onda, λ o comprimento de onda (\AA) do neutrão e os índices i e f representam os estados inicial e final¹⁵. No caso da espectroscopia vibracional de Infravermelho e de Raman, o momento Q é muito pequeno, o que torna estas duas técnicas sujeitas a regras de selecção nas quais se observem apenas transições com vector de onda nulo.

A técnica de INS, por sua vez, apresenta para qualquer vector de onda todos os modos activos, não estando deste modo sujeita a regras de selecção. A extensa aplicabilidade da INS é devida, em grande parte, ao facto de não existirem regras de selecção, pelo que todos os modos vibracionais são visíveis no espectro vibracional.

A técnica de INS apresenta uma configuração de espectroscopia intrinsecamente bidimensional, uma vez que Q e E são ambos acessíveis. Deste modo, a função de difusão medida, $S(Q,E)$, pode ser incoerente, $S^{inc}(Q,E)$ ou coerente, $S^{coe}(Q,E)$. De forma a medir a variação de frequência com o vector onda, obtendo-se assim importantes informações acerca da modelação das forças interatómicas¹⁵, recorre-se à espectroscopia INS coerente.

Dependendo da relação das secções eficazes de difusão incoerente e coerente dos núcleos difusores, o espectro de INS obtido pode ser coerente ou incoerente. Contudo, a informação mais importante é a da difusão incoerente. Esta envolve a correlação entre a posição do mesmo núcleo, pelo que não há efeitos de interferência e os movimentos de uma única partícula são analisados, permitindo deste modo a medição do espectro vibracional do material.

A difusão provocada por amostras com átomos de hidrogénio é maioritariamente incoerente, uma vez que o átomo de hidrogénio tem uma enorme secção eficaz incoerente, aproximadamente 40 vezes superior à secção coerente e mais de 10 vezes superior à secção incoerente da maioria dos restantes elementos⁵. Este facto implica que os modos que envolvam o átomo de hidrogénio dominem o espectro de INS, tornando esta técnica como a de eleição na detecção do modo $H \cdots Y$.

A utilização de neutrões como fonte de excitação implica que um dos requisitos essenciais para a obtenção de espectros INS seja a fonte de neutrões. Existem dois métodos pelos quais se podem gerar neutrões: pela fissão de ^{235}U num reactor nuclear ou pela “quebra” do núcleo com uma fonte de protões de elevada energia – “*spallation*”. A aceleração de um feixe de protões até próximo da velocidade da luz, verificando-se em seguida o impacto num alvo constituído por um metal pesado, geralmente tântalo ou urânio empobrecido, constitui a base do processo de “*spallation*”.

A utilização de fontes de neutrões e, consequentemente, a obtenção de espectros de INS, não é possível num laboratório normal. Essas fontes de neutrões encontram-se apenas disponíveis em grandes infra-estruturas internacionais, como por exemplo, o *ISIS – Rutherford Appleton Laboratory (RAL)* em Chilton no Reino Unido e no *Institut Laue-Langevin* em Grenoble, França.

Os dois tipos de fontes de neutrões operam normalmente de diferentes maneiras: a fonte utilizada no processo de “*spallation*” é pulsada a 50 Hz enquanto que o reactor é uma fonte contínua. A vantagem de se utilizar o modo pulsado é que a análise de energia pode ser efectuada utilizando a técnica de “tempo de voo” (sigla em inglês TOF). Esta é a técnica que é

utilizada no espectrómetro TOSCA, existente no ISIS, espectrómetro com o qual foram realizadas algumas experiências cujos resultados são analisados no âmbito desta tese.

De maneira a converter o tempo de voo em energia, utiliza-se o seguinte procedimento: a energia cinética de um neutrão é dada por:

$$E = \frac{mv^2}{2} \quad (3)$$

em que m e v representam, respectivamente a massa e velocidade do neutrão. Com o rearranjo da equação (3), obtém-se:

$$v = \sqrt{\frac{2E}{m}} \quad (4)$$

Atendendo a que

$$\text{tempo de voo} = \text{distância percorrida} / \text{velocidade} \quad (5)$$

e dado que num processo inelástico o tempo de voo total (tempo de chegada ao detector, T) é dado pela soma dos tempos de voo incidente (antes da difusão, t_i) e final (após difusão, t_f), verifica-se que:

$$T = t_i + t_f = \frac{L}{v_i} + \frac{l}{v_f} \quad (6)$$

em que v_i e v_f representam, respectivamente, as velocidades inicial e final do neutrão, e L e l representam, respectivamente, a distância entre a fonte e amostra e a distância entre a amostra e o detector. De acordo com a equação (6) e (4), obtém-se:

$$T = \frac{L}{\sqrt{\frac{2E_f}{m}}} + \frac{l}{\sqrt{\frac{2E_i}{m}}} \quad (7)$$

em que E_i e E_f representam, respectivamente, as energias incidente e final. Deste modo, uma vez que E_f , l , L e m são conhecidos, o tempo de chegada ao detector, T , define unicamente a energia incidente E_i e portanto a energia transferida para a amostra.

II.2.2 – Computacionais: cálculos de orbitais moleculares do tipo *ab initio*

A simulação computacional possibilita uma estreita ligação entre a teoria e a experiência. É no entanto essencial reconhecer que a simulação computacional não substitui a teoria (em termos de modelos interpretativos) e a experiência laboratorial mas contribui enormemente para o avanço de ambas.

O desenvolvimento computacional verificado nas últimas décadas permitiu que os cálculos computacionais se tornassem uma ferramenta acessível e essencial na previsão de geometrias, energias de activação, energias termodinâmicas, análise conformacional, propriedades espectroscópicas, entre outros. No entanto, apresentam algumas desvantagens tais como o facto da qualidade dos resultados serem dependentes da escolha do método (normalmente referido como o nível de teoria) e da base de cálculo, de considerarem apenas moléculas isoladas, não incluindo deste modo efeitos devido ao ambiente, e de serem muito exigentes em termos computacionais.

No campo da química computacional desenvolveram-se duas abordagens conceptualmente diferentes relacionadas com a estrutura de moléculas.

A abordagem mais simples é a denominada mecânica molecular. Nos cálculos de mecânica molecular, baseados em conceitos de mecânica clássica, cada átomo é considerado como uma esfera rígida e cada ligação química como um oscilador harmónico. Em todos os métodos de mecânica molecular, os parâmetros associados aos osciladores são ajustados (parametrização) de maneira a obter-se uma correspondência entre os resultados obtidos teoricamente e experimentalmente. Este processo implica que os resultados estejam condicionados pela parametrização, e portanto não se obtêm resultados que não sejam previstos. Adicionalmente, nem sempre é possível obter um conjunto de dados experimentais que possibilitem a parametrização mais correcta. Esta desvantagem pode ser ultrapassada pela utilização de cálculos mecânico-quânticos, também designados por cálculos de estrutura electrónica, dos quais são parte integrante os cálculos *ab initio*.

Os cálculos *ab initio* permitem obter uma configuração geométrica de equilíbrio a partir de uma geometria inicial, através da variação sistematizada de parâmetros estruturais, tais como o comprimento e ângulos de ligação e diedros. Estes podem dividir-se em dois grupos,

os métodos do Campo Autocoerente (sigla em inglês SCF) e os métodos da Teoria do Funcional de Densidade (sigla em inglês DFT)¹⁶.

O método de *Hartree-Fock* (HF) de cálculo de orbitais moleculares por cálculos *ab initio* é um método de Campo Autocoerente que tem como base fundamental considerar que cada electrão se move num campo definido pela densidade electrónica média dos restantes, possibilitando o cálculo das orbitais moleculares de uma forma muito rápida. Contudo, apresenta como limitação o facto de ignorar a interacção entre os electrões que ocupam a mesma orbital, isto é, a correlação electrónica. Este facto pode dar origem, por exemplo, a distâncias de ligação demasiado curtas e ângulos demasiado fechados, previstos durante a optimização de geometrias. No caso de sistemas contendo pares de electrões não ligantes, os efeitos da correlação electrónica nas geometrias assumem particular relevância. De maneira a contornar tais limitações foram desenvolvidos novos métodos, designados pós-SCF, para os quais os efeitos da correlação electrónica são incluídos. Entre os vários métodos, encontram-se os métodos MPn (*Møller-Plesset* de ordem n), baseados na teoria das perturbações. Contudo, o mais comum é recorrer-se à perturbação de segunda ordem, MP2, uma vez que já representa uma boa estimativa e com um custo computacional aceitável¹⁶.

Os métodos DFT distinguem-se dos SCF pelo modo de descrever as propriedades electrónicas. Enquanto que os métodos SCF optimizam uma função de onda, os de DFT optimizam uma densidade electrónica.

Os métodos DFT baseiam-se na determinação da energia como funcional da densidade electrónica, isto é, assume-se que a determinação de todas as propriedades moleculares pode ser efectuada se for conhecida a densidade electrónica. Entre os próprios métodos DFT, existem os métodos híbridos que revelam ser mais precisos que os funcionais DFT. Um dos funcionais híbridos mais frequentemente utilizado é o B3LYP (utilização do potencial de permuta de *Becke*¹⁷ com 3 parâmetros e o funcional de correlação de *Lee, Yang e Parr*)¹⁸. Este método apresenta como particularidade o facto de, em certos casos, não ser necessário o recurso a bases muito exigentes, com respectiva diminuição do tempo computacional utilizado.

A base de cálculo, definida como sendo a descrição matemática das orbitais atómicas, condiciona determinantemente a qualidade dos resultados obtidos com os cálculos mecânico-quânticos. As funções gaussianas, apesar de não descreverem bem a densidade electrónica na região do núcleo e para grandes distâncias, permitem um tratamento matemático bastante rápido. No entanto, para o cálculo de orbitais moleculares, as funções de *Slater* são mais

precisas que um número similar de funções gaussianas. Deste modo, os conjuntos de bases padrão utilizados nos cálculos mecânico-quânticos descrevem as funções de *Slater* em termos de combinações lineares de funções gaussianas. O conjunto de base STO-3G, designação que significa orbital do tipo *Slater* (sigla em inglês STO) construída com três gaussianas, é um conjunto de base mínimo, isto é, que contém o número mínimo de funções de base necessárias para descrever cada orbital monoelectrónica.

De maneira a obter-se estruturas e propriedades de maior qualidade recorre-se à utilização de conjuntos de base padrão de grande dimensão. A dimensão do conjunto de base pode ser aumentada pelo desdobramento das orbitais de valência. Por exemplo, no conjunto de base 6-31G são utilizados 3 conjuntos de funções gaussianas para descrever a estrutura electrónica dos átomos. A primeira é uma contracção de 6 gaussianas primitivas que descrevem as camadas internas. A segunda função é obtida pela contracção de 3 gaussianas primitivas, e a terceira é uma função gaussiana não contraída. A segunda e terceira função representam a camada de valência, que se encontra assim desdobrada em duas funções. Caso a camada de valência esteja desdobrada em 3 funções, o conjunto de base é representado por 6-311G.

As bases com desdobramento das orbitais de valência permitem a variação do tamanho da orbital mas não permitem a variação da forma. A inclusão de funções de polarização¹⁹, que permite melhorar a descrição das distribuições electrónicas em torno de um átomo, elimina esta limitação. No conjunto de base 6-31G* e 6-31G**, tem-se o conjunto de base 6-31G com funções *d* adicionadas aos átomos mais pesados (6-31G*) e funções *p* adicionados aos átomos de hidrogénio (6-31G**).

A inclusão de funções difusas é particularmente importante quando se pretende descrever sistemas com excesso de electrões, como por exemplo moléculas com pares desemparelhados, aniões ou outros sistemas com significativa carga negativa. No conjunto de base 6-31+G* e 6-31++G*, tem-se o conjunto de base 6-31G* com funções difusas adicionadas aos átomos mais pesados (6-31+G*) e também aos átomos de hidrogénio (6-31++G*).

Para cálculos que envolvam duas ou mais moléculas, tem de se ter em consideração o erro de sobreposição de bases (sigla em inglês BSSE). Este erro advém do facto de que o conjunto de base utilizado para a molécula doadora diminui a energia calculada para a molécula aceitadora e vice-versa, o que consequentemente leva a que a energia de ligação seja

bastante elevada. Uma das maneiras mais comuns para estabelecer essa correcção é pela utilização do método de *contra-peso* (CP).

O cálculo computacional para sistemas de elevada dimensão depende inevitavelmente da capacidade computacional disponível. O método dos “*potenciais eficazes do cerne*” ou também designado por “*pseudopotenciais*” foi desenvolvido no sentido de se reduzir o tempo computacional, sem no entanto perder qualidade nos resultados. Neste método, verifica-se a substituição dos electrões das camadas internas por um potencial que simula a sua influência sobre os electrões da camada de valência. Na simulação do cerne de átomos com número igual ou superior ao do sódio, as bases designadas por LanL2DZ e LanL2MB utilizam “*pseudopotenciais*”.

O método de camadas de *Morokuma*, designado por ONIOM²⁰⁻²², é um método que permite integrar vários níveis de cálculo, tendo sido desenvolvido para ultrapassar as dificuldades (em termos de tempo total de cálculo) resultantes da dimensão do sistema. Nesta aproximação, ao serem estabelecidas duas camadas com diferentes níveis de cálculo, por exemplo, uma descrita em termos de mecânica-quântica (apenas para os fragmentos considerados relevantes) e outra em termos de mecânica-molecular (para os restantes), o tempo total de cálculo do sistema em estudo diminui consideravelmente. No entanto, verifica-se que a convergência na optimização da geometria é frequentemente errática, o que inibe uma abordagem com base nessas geometrias optimizadas.

Um processo alternativo ao método ONIOM descrito anteriormente poderá ser a determinação sequencial de energias de determinadas geometrias, definidas antecipadamente. Este método, permite, através da correlação geometria-energia determinar um mínimo de energia e inferir assim os modos preferenciais de inclusão.

II.3 –Aplicação da espectroscopia vibracional

As ligações de hidrogénio podem ser definidas, separadamente de qualquer definição química, por determinadas características exibidas quando estudadas por técnicas experimentais específicas. Além da espectroscopia vibracional, outras técnicas espectroscópicas, tais como Difracção de raios-X e Ressonância Magnética Nuclear (RMN), podem ser utilizadas para verificar a ocorrência de interacções intermoleculares em fase condensada pela capacidade que também possuem para revelar a associação de moléculas. Estas técnicas recorrem à interacção radiação-matéria de maneira a obter informações precisas

sobre a estrutura molecular, uma vez que utilizam a radiação electromagnética como perturbação e simultaneamente como sonda das alterações produzidas. No entanto, é de referir que a espectroscopia vibracional é a técnica experimental de eleição quando se pretende detectar a presença de ligações de hidrogénio⁷, particularmente em sistemas em fase líquida, podendo-se obter informações quer estruturais quer energéticas de vários complexos ligados por ligações de hidrogénio.

Na interpretação de espectros vibracionais torna-se bastante útil a utilização de modos localizados, isto é, vibrações com a contribuição dominante de apenas uma ligação ou grupo de ligações, e que portanto apresentam frequências de vibração bastante específicas (designadas por “frequências de grupo”). Esta particularidade torna-se bastante conveniente no estudo de ligações de hidrogénio, uma vez que ao ser estabelecida uma interacção por ligações de hidrogénio, as vibrações dos fragmentos envolvidos na interacção $X-H \cdots Y$ são perturbadas, o que significa que o perfil, posição e intensidade das bandas dos modos vibracionais que incluem os átomos directamente envolvidos, $X-H$ e Y , podem alterar-se. Esta é a base que justifica o uso extensivo da espectroscopia vibracional no estudo e caracterização de ligações de hidrogénio.

Desde 1933⁵ que se tem conhecimento de que a técnica de espectroscopia vibracional, relativamente acessível, poderia providenciar uma ferramenta extraordinariamente sensível na identificação da ocorrência de uma ligação de hidrogénio através de desvios da frequência de elongação $X-H$ (ν_{X-H}). Trabalhos efectuados por *Liddell* e *Wulf* em 1933²³ e por *Hendricks* e *Hilbert* em 1936²⁴, permitiram apenas a observação dos efeitos mais característicos da presença da ligação de hidrogénio no espectro vibracional através da banda de elongação $X-H$ (ν_{X-H}). Dado que é a ligação existente entre dois átomos que funciona como sonda, a observação de desvios em relação às frequências de vibração do grupo isolado $X-H$ evidenciava a presença de ligações de hidrogénio. Mas, à medida que a técnica se desenvolvia e a experiência aumentava, alterações na banda de deformação angular $W-X-H$, embora menos evidentes que as verificadas na correspondente banda de elongação e o aparecimento na região do infravermelho distante ($200-10\text{ cm}^{-1}$)⁵ de novas bandas de baixa frequência que envolvem a elongação e a deformação angular $H \cdots Y$, passaram também a ser considerados indícios da presença de ligações de hidrogénio. Em princípio, a detecção do modo $H \cdots Y$ seria o indicador espectroscópico mais directo sobre a presença de ligações de hidrogénio. Contudo, como já referido anteriormente, torna-se conveniente recorrer ao uso da técnica de difusão inelástica de neutrões (INS) para tentar observar experimentalmente esse modo de vibração.

Adicionalmente às alterações verificadas nas vibrações que envolvem o grupo doador de protão ($X-H$), também as vibrações que envolvem o grupo aceitador de protão (Y) podem sofrer alterações, uma vez que o campo de forças à volta desse grupo é alterado como resultado da formação da ligação de hidrogénio. No caso de ligações de hidrogénio fracas que envolvam aceptadores do tipo carbonilo, $C-H\cdots O=C$, determinadas alterações no modo de elongação desse grupo, nomeadamente o desdobramento da banda correspondente, com consequente atribuição a grupos carbonilo livres e em ligação de hidrogénio, são considerados indícios da presença deste tipo de ligações. Este tema será discutido posteriormente no Capítulo III.

A aplicabilidade da espectroscopia vibracional no estudo de ligações de hidrogénio estende-se desde as ligações de hidrogénio fortes até às mais fracas. Diferentes tipos de ligações de hidrogénio afectam os modos vibracionais dos grupos envolvidos de diferentes maneiras. De um modo geral, no caso de ligações de hidrogénio fortes, a sua formação perturba vários modos vibracionais, particularmente elongação $X-H$ e deformação angular $W-X-H$. No caso de ligações de hidrogénio fracas, a sua detecção é feita, normalmente, pela banda de elongação $X-H$, uma vez que os efeitos que a sua presença provoca nos outros modos de vibração são frequentemente imperceptíveis e podem ser confundidos por outros efeitos⁴.

Apesar da elevada sensibilidade que a espectroscopia vibracional apresenta no estudo de ligações de hidrogénio, a detecção dos efeitos que as ligações de hidrogénio fracas provocam no espectro vibracional nem sempre são tão evidentes como os provocados pelas ligações de hidrogénio fortes e podem mesmo ser diferentes consoante os diferentes tipos de doadores e aceptadores envolvidos nas ligações de hidrogénio fracas. Por exemplo, a frequência de elongação do oscilador $C-H$ quando envolvido em ligações de hidrogénio do tipo $C-H\cdots O$ pode ser desviada para menores ou maiores frequências, dependendo da natureza do doador $C-H$. Este tema terá um maior desenvolvimento no Capítulo III.

Adicionalmente, nem sempre é fácil estabelecer a distinção entre efeitos intra e intermoleculares com base no espectro vibracional. Por exemplo, nos monoalcoois a frequência de elongação do $O-H$ “livre” varia mais de 10 cm^{-1} entre os diferentes conformémeros devido ao diferente ambiente intramolecular.²⁵

II.3.1 – Propriedades espectroscópicas da banda de elongação $X-H$

Nos últimos 50 anos²⁶ tem-se feito um esforço considerável para compreender as propriedades da banda de elongação $X-H$ de sistemas que envolvam ligações de hidrogénio, uma vez que esta apresenta as características mais facilmente reconhecíveis da presença deste tipo de ligação, observáveis quer por espectroscopia vibracional de absorção no Infravermelho quer por espectroscopia de difusão de Raman.

O desvio da frequência de elongação $X-H$ para menores ou maiores valores, dependendo da natureza da ligação de hidrogénio que se forma, é tanto mais acentuado quanto mais forte for a ligação estabelecida. Assim, no caso de ligações do tipo $O-H\cdots O$ verificam-se desvios de 100 a 150 cm^{-1} em relação à frequência de vibração do grupo $O-H$ ²⁷, enquanto que no caso das ligações $C-H\cdots O$ os desvios poderão ser de apenas 20 cm^{-1} ou até inferiores⁷, em relação à frequência de vibração do grupo $C-H$, dependendo da força estabelecida nesse contacto.

Adicionalmente ao desvio da frequência de elongação $X-H$, o aumento da largura bem como a intensificação da banda, efeitos interdependentes em certos casos³, são características importantes a ter em consideração aquando da formação de uma ligação de hidrogénio. Estas características podem mesmo ser consideradas indicadores mais fiáveis que o desvio da banda de elongação $X-H$. Por exemplo, existem casos de ligações de hidrogénio do tipo $C-H\cdots O$ em que o desvio da banda de elongação $X-H$ é de difícil detecção enquanto que a intensidade da banda aumenta consideravelmente²⁸. Comportamento semelhante e conhecido de longa data é o apresentado pelo clorofórmio em determinados sistemas clorofórmio/solventes, nos quais se verificou que a banda de elongação $C-D$ alarga e intensifica-se mas não sofre desvios. *Huggins* e *Pimentel* estabeleceram que a frequência da banda de elongação $C-D$ do clorofórmio deuterado é a mesma em CCl_4 (solvente de *van der Waals* ou solvente neutro) e em acetona (solvente aceitador de protão)²⁹ mas a área integrada aumenta mais de 10 vezes³⁰. Neste estudo recorreu-se à utilização da banda de elongação $C-D$ do doador de protão, dado que a frequência de elongação $C-D$ apresenta valores inferiores ao da frequência de elongação $C-H$, devido à alteração de massa, tornando-se possível diferenciar esta banda de outras bandas $C-H$, para além do facto de que na região de elongação $C-D$ (2400-2000 cm^{-1})⁴ não ocorrem interferências de outras bandas.

II.3.2 – Correlações entre parâmetros estruturais e vibracionais

Correlações entre parâmetros estruturais e vibracionais têm sido estabelecidas para várias ligações de hidrogénio⁵. Relações entre o valor da frequência de elongação $X-H$ e distâncias $X\cdots Y$ são muito comuns. Por exemplo, para ligações de hidrogénio fortes $O-H\cdots O$, estabeleceu-se uma correlação entre ν_{O-H} e a distância $O\cdots O$ ³¹. Para ligações de hidrogénio mais fracas, por exemplo entre o doador $C\equiv C-H$ e os aceitadores O ³², N ³³ e $C=C$ ³⁴, têm sido estabelecidas correlações idênticas. Contudo, dependendo dos grupos envolvidos, a frequência de elongação $X-H$ é diferente e consequentemente gera a sua própria correlação. Deste modo, correlacionar a diferença entre o valor da ν_{X-H} quando o grupo $X-H$ está livre e quando está ligado ($\Delta \nu_{X-H}$) com a distância $H\cdots Y$ torna-se mais informativa no sentido que possibilita também uma medição semi-quantitativa da força da ligação. A diferença $\Delta \nu_{X-H}$ aumenta sistematicamente com a diminuição da distância $H\cdots Y$ (ou $X\cdots Y$), tendo sido proposta uma correlação $\Delta \nu_{X-H} = f(H\cdots Y)$ aproximadamente válida para diferentes tipos de ligações de hidrogénio. Com base num determinado conjunto de diferentes estruturas orgânicas e inorgânicas, estabeleceu-se que $\Delta \nu_{X-H} = 0.011d_{H-Y}^{-6.1}$ (em que a frequência de elongação ν_{X-H} é expressa em cm^{-1} e a distância d em nm)³⁵. Adicionalmente, foi estabelecida uma correlação entre parâmetros espectrais e entalpia de formação (ΔH) para a ligação de hidrogénio $O-H\cdots O$, $-\Delta H = 0.134d_{H-Y}^{-3.05}$ e $-\Delta H = 1.3\Delta \nu_{X-H}^{0.5}$ (frequência de elongação ν_{X-H} expressa em cm^{-1} e H em kJmol^{-1}).³⁵ As correlações entre parâmetros espectrais e energia das ligações de hidrogénio foram inicialmente estabelecidas por *Badger e Bauer* (1937)³⁶ e têm sido continuamente refinadas por vários grupos de autores⁴. A correlação entre o aumento de $I(\nu_{X-H})$ e a entalpia de formação de ligações de hidrogénio foi estabelecida em 1999 por *Iogansen*³⁷, considerando como medida da intensificação da banda a quantidade $\Delta I^{1/2}$, em que I representa a intensidade da banda integrada. Obteve a seguinte relação, $H = 12.2 \Delta I^{0.5}$ sugerida por um modelo “aditivo” das cargas efectivas de $X-H$ e de $H\cdots Y$, que considera ser aplicável a diferentes tipos de ligações de hidrogénio. No entanto, críticos sugerem que não existe explicação teórica plausível para esta relação³⁸.

Estas correlações representam contudo apenas tendências e não leis restritas. Um caso interessante é o do mestranol cristalino³⁹, que contém um sistema interconectado de ligações de hidrogénio convencionais com não convencionais. A sua estrutura cristalina contém duas

moléculas A e B por unidade assimétrica que possuem diferentes contactos intermoleculares (Figura II.3).

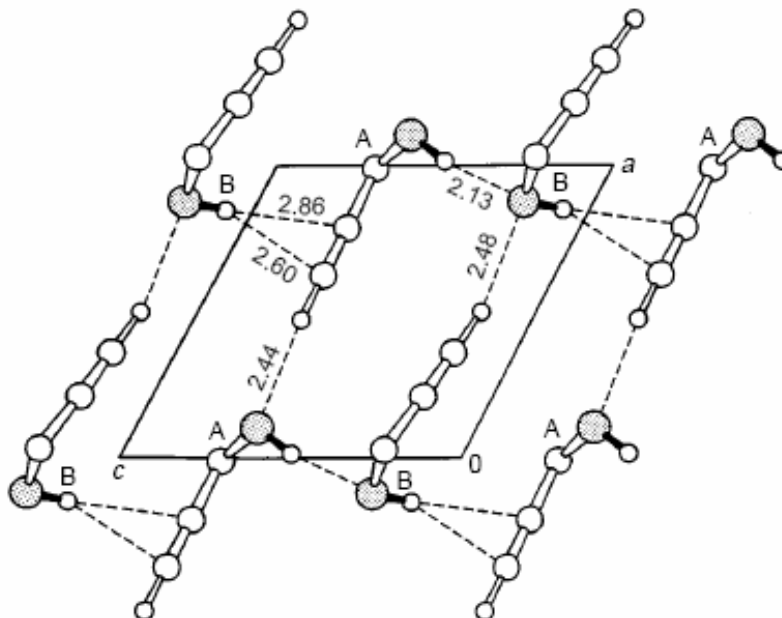


Figura II.3 – Padrão das ligações de hidrogénio existente no metanol³⁹.

Apesar de apresentar ligações $C \equiv C-H \cdots O$ com distâncias $H \cdots O$ muito similares, 2.44 e 2.48 Å, os desvios da frequência de elongação $C-H$ diferem significativamente, 21.3 e 59.8 cm^{-1} . Este facto só pode ser explicado por diferenças no ambiente intermolecular. Verificam-se dois tipos de interacção $C-H \cdots O$: a interacção que se verifica na cadeia infinita $O(B)-H \cdots C \equiv C(A)-H \cdots O(A')-H \cdots O(B')-H$ é a mais forte, uma vez que é estabelecida por um grupo doador $C \equiv C-H$ que simultaneamente aceita uma interacção $O-H \cdots \pi$, e a interacção isolada $C \equiv C(B)-H \cdots O(B)-H$ que é a mais fraca. As diferenças obtidas nos desvios podem então ser interpretadas como consequência directa dos efeitos de cooperatividade.

II.3.3 – Estudos de diluição e de variação de temperatura

Como referido anteriormente, o desdobramento verificado em certas bandas pode ser considerado um indício da presença de ligações de hidrogénio. Deste modo, pode-se considerar que existem dois componentes, livre e em ligação de hidrogénio, a contribuírem para o perfil da banda em questão.

De acordo com *Shurvell* e col.^{40,41}, é possível obter informação em relação ao número de espécies em equilíbrio pela presença ou ausência de um ponto pseudo-isosbético, que pode ser obtido quando se normaliza os espectros para uma área unitária. Sempre que existirem apenas duas espécies a contribuir para o perfil da banda, verifica-se a presença de um ponto pseudo-isosbético único. Assim sendo, em estudos de diluição ou de variação de temperatura, a presença deste ponto confere um suporte adicional para a atribuição das duas bandas observadas a duas espécies em equilíbrio, consideradas como formas livres e formas em ligação de hidrogénio 1:1.

Os estudos de diluição, preferencialmente em CCl_4 , são muito úteis no estudo de ligações de hidrogénio em fases condensadas. Este solvente, ao afastar as moléculas, torna-as independentes umas das outras, de tal modo que ligações de hidrogénio que possam ocorrer em fase condensada não ocorram quando os compostos se encontram em solução. Além disso, por ser um solvente apolar e não possuir grupos aceitadores ou doadores de protão, não apresenta efeito competitivo na formação de ligações de hidrogénio. No entanto, é de esperar que ocorram desvios nas posições dos máximos das bandas devido a diferenças de polaridade entre o soluto e o solvente.

Estudos de diluição em solventes doadores de protão, como por exemplo o CH_3OH , doador no estabelecimento de ligações de hidrogénio fortes do tipo $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$, são também bastante úteis no estudo de ligações de hidrogénio. Nestes estudos verifica-se o aumento da intensidade relativa da banda atribuída a grupos envolvidos em ligações de hidrogénio.

De modo a poder obter-se dados adicionais, nomeadamente dados termodinâmicos que possam elucidar acerca da natureza da ligação de hidrogénio presente, efectua-se estudos a temperaturas variáveis. Os resultados obtidos são um pouco idênticos aos observados quando se consideram estudos de diluição, isto é, para temperaturas baixas a formação de ligações de hidrogénio é favorecida, enquanto que temperaturas elevadas provocam o rompimento das ligações de hidrogénio.

A medição de qualquer propriedade física que seja sensível quer à formação de ligações de hidrogénio quer à variação de temperatura, permite, em princípio, a determinação de parâmetros termodinâmicos da ligação de hidrogénio, pela medição da constante de equilíbrio (K). Pela medição da variação da constante de equilíbrio (K) com a temperatura, a entalpia e a entropia de complexação podem ser obtidas usando a seguinte expressão:

$$\ln K = \ln \left(\frac{c_B}{c_A} \right) = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (8)$$

em que C_A e C_B representam a concentração dos componentes A (livre) e B (em ligação de hidrogénio) que constituem o modo vibracional em análise e que apresentam diferentes frequências e diferentes intensidades de bandas integradas, I_A e I_B . Admitindo-se que

$$c_{A,B} = \frac{I_{A,B}}{\alpha_{A,B}} \quad (9)$$

em que α_A e α_B representam as coeficientes molares, a representação de $\ln(K)$ em função do inverso da temperatura permite calcular o valor da entalpia ΔH de acordo com a seguinte relação:

$$\ln K = \ln \left(\frac{I_B}{I_A} \right) = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} + \ln \left(\frac{\alpha_B}{\alpha_A} \right) \quad (10)$$

em que o declive (m) da representação é igual a $-\Delta H/R$ ⁴². Para a determinação das intensidades de bandas integradas, I_A e I_B , pode ser necessário fazer o ajuste de bandas. Este processo pode ser efectuado com funções Gaussianas ou Lorentzianas, dependendo a escolha do perfil da banda do modo em análise.

Nesta simples aproximação, em que se assume a proporcionalidade entre as populações do monómero/dímero com as correspondentes intensidades de Raman das duas bandas que constituem o modo em análise, obtêm-se boas estimativas dos valores de entalpia de dimerização sempre que a população do dímero seja considerada baixa.

Quando esta aproximação falha, é necessário proceder-se à determinação da constante de equilíbrio real para os processos de dimerização para líquidos em termos de concentração molar de dímeros e monómeros. Para poder calcular esses valores é necessário calcular antecipadamente a concentração dos componentes A (livre) e B (em ligação de hidrogénio), que estão relacionados, de acordo com a equação (5), com os valores dos coeficientes de difusão molar de Raman correspondentes às formas livres (α_A) e ligadas (α_B). O método proposto por *Shurvell* e col.^{40,41}, seguidamente apresentado, permite determinar a relação α_B/α_A .

A concentração total do composto C_T é dada pelo somatório dos grupos livres e em ligação de hidrogénio no líquido:

$$C_T = C_B + C_A = \frac{I_B}{\alpha_B} + \frac{I_A}{\alpha_A} \quad (11)$$

multiplicando a equação anterior por α_B , temos:

$$\alpha_B C_T = \left(\frac{I_B}{\alpha_B}\right) \times \alpha_B + \frac{I_A}{\alpha_A} \times \alpha_B \quad (12)$$

e portanto,

$$\alpha_B C_T = I_B + \frac{\alpha_B}{\alpha_A} \times I_A \quad (13)$$

$$I_B = \alpha_B C_T - \frac{\alpha_B}{\alpha_A} \times I_A \quad (14)$$

Deste modo, pela representação de I_B em função de I_A , obtidos a partir de espectros de Raman registados a diferentes temperaturas, obtém-se o valor da razão α_B/α_A pelo declive da recta. Pelo rearranjo das equações anteriores, obtém-se:

$$C_T = \left(\frac{I_A \alpha_B}{I_B \alpha_A}\right) \times C_B + C_B \quad (15)$$

$$C_B = \frac{C_T}{1 + \left[\frac{1}{\frac{I_B}{I_A}} \right] \times \frac{\alpha_B}{\alpha_A}} \quad (16)$$

$$C_A = C_T - C_B \quad (17)$$

Quando o tipo de ligação de hidrogénio que se forma é dupla, verifica-se, para cada dímero, que ambos os grupos que originam os modos que estão a ser observados (um de cada monómero) estão em ligação de hidrogénio. Nesta situação, a constante de equilíbrio é dada por:

$$K_{eq} = \frac{C_D}{C_M} \quad (18)$$

Se a dimerização ocorrer apenas através de ligações de hidrogénio simples, verifica-se, para cada dímero, que apenas um dos grupos está em ligação de hidrogénio e portanto a população do dímero contribui quer para a concentração dos grupos livres (A) quer para a concentração dos grupos em ligação de hidrogénio e portanto a constante de equilíbrio é dada por:

$$K_{eq} = \frac{C_D}{C_M^2} \quad (19)$$

II.3.4 – Estudo de interações hóspede-hóspedeiro

Dado que o processo de inclusão molecular implica modificações estruturais quer da ciclodextrina quer do hóspede, determinadas alterações nos espectros vibracionais, tais como desvios ou variações de intensidades em determinadas bandas do hóspede, podem ser indicativas quer da presença de interações hóspede-hóspedeiro quer de determinadas características estruturais resultantes da inclusão. Deste modo, a espectroscopia de absorção no Infravermelho (FT-IR) e de difusão de Raman (FT-Raman) constituem métodos experimentais que podem ser aplicados com êxito no estudo de compostos de inclusão no estado sólido⁴³⁻⁴⁵. No entanto, a análise dos espectros vibracionais FT-IR dos compostos de inclusão não é uma tarefa fácil. De facto, a maioria das bandas dos hóspedes, que poderão ser afectadas pela inclusão, estão dissimuladas pela presença de bandas, relativamente intensas, atribuídas às ciclodextrinas⁴⁶ e que praticamente não sofrem alteração.

Em particular, a espectroscopia de difusão de Raman constitui uma excelente ferramenta no estudo dos efeitos do processo de inclusão nas moléculas hóspedes, uma vez que o espectro de Raman destas apresenta regiões livres de bandas de CDs que podem ser utilizadas na monitorização de modos vibracionais de moléculas hóspedes, considerados como

modos vibracionais relevantes, tais como os modos de elongação de duplas ligações ($C=C$, $C=O$, entre outras) e de ligações $C-H$ aromáticas⁴⁷⁻⁵⁶.

A título de exemplo, tem-se o estudo, por espectroscopia de Raman, dos efeitos do processo de inclusão de vários benzaldeídos em ciclodextrinas⁴⁸. Neste trabalho verificou-se que alterações espectrais em regiões características do espectro eram indicativas de interações específicas hóspede-hospedeiro. Verificou-se, em alguns casos, a formação de ligações de hidrogénio entre o grupo carbonilo e os grupos hidroxilo das CDs e indícios da formação de ligações de hidrogénio do tipo $C-H \cdots O$ entre moléculas hóspedes.

II.4 – Aplicação dos cálculos *ab initio*

No caso concreto do estudo de ligações de hidrogénio, os cálculos teóricos do tipo *ab initio* fornecem importantes informações não só acerca das alterações energéticas mas também acerca de variações estruturais que ocorrem aquando da formação de ligações de hidrogénio, sendo uma delas a variação no comprimento das ligações e que se manifesta por determinadas características vibracionais (como foi descrito na Secção II.3). Adicionalmente, permitem calcular propriedades moleculares importantes tais como as frequências vibracionais e respectivas intensidades³⁸. Parâmetros relacionados com a distribuição de populações, tais como carga atómica e variações da distribuição de carga, energias de interacção e respectivas ordens de ligação de *Wiberg*, que assumem também um papel importante no estudo de ligações de hidrogénio, podem ser obtidos através da análise das orbitais de ligações naturais (sigla em inglês NBO)^{57,58}.

Dado que para se obter uma descrição precisa das ligações de hidrogénio, consideradas interações fracas, é necessária a contabilização da correlação electrónica, devem-se considerar apenas os métodos DFT e MPn (*Møller-Plesset* de ordem n). No entanto, os métodos híbridos B3LYP são os métodos actualmente mais usados no estudo deste tipo de interacção. Aproximações de MP2 e B3LYP foram comparadas num estudo detalhado sobre formação de complexos, através de ligações de hidrogénio, de pequenas moléculas com a água⁵⁹. No que respeita à qualidade dos resultados, considerou-se o B3LYP superior ao MP2, além de ter a vantagem de ser menos exigente em termos computacionais.

Uma outra dificuldade presente na determinação de energias de ligações de hidrogénio é o erro de sobreposição de bases (BSSE) para as energias de dimerização. Este pode

sobrevalorizar significativamente a magnitude da ligação de hidrogénio e a sua contribuição deveria ser sempre calculada.

Actualmente, uma das aplicações mais frequentes dos cálculos *ab initio* é o cálculo teórico de frequências de vibração. Esta aplicação permite que os cálculos sejam utilizados como uma ferramenta de análise e interpretação de espectros vibracionais, por comparação do espectro vibracional previsto teoricamente com o obtido experimentalmente. No entanto, como já referido anteriormente, os cálculos *ab initio* consideram apenas moléculas isoladas e portanto não incluem efeitos devido ao ambiente. Deste modo, as frequências vibracionais calculadas para a molécula isolada não descrevem adequadamente os espectros vibracionais de sistemas sólidos, principalmente se na estrutura cristalina destes existirem interacções intermoleculares fortes. Uma nova metodologia, PiMM – Pares em Materiais Moleculares, permite que esta limitação seja ultrapassada ao descrever os espectros vibracionais de sistemas sólidos em termos aditivos dos efeitos das interacções intermoleculares entre dímeros. Adicionalmente, pode também auxiliar na previsão de possíveis contactos intermoleculares, dos quais se destacam as ligações de hidrogénio, quando não se tem conhecimento dos mesmos por difracção de raios-X.

Numa outra vertente, os cálculos *ab initio* podem ser utilizados na modelação molecular de compostos de inclusão em ciclodextrinas⁶⁰⁻⁶², possibilitando-se assim a determinação de parâmetros energéticos e geométricos associados ao processo de inclusão. A investigação quer do perfil energético quer dos modos preferenciais de inclusão⁶³⁻⁷¹, bem como das possíveis interacções hóspede-hospedeiro, específicas e não específicas (por exemplo ligações de hidrogénio e interacções electrostáticas)^{48,51,54,72-76}, são alguns exemplos da aplicabilidade dos cálculos *ab initio* na área das ciclodextrinas.

II.5 – Bibliografia

1. Pauling L 1931. The nature of the chemical bond. Applications of results obtained from the quantum mechanics and from a theory of paramagnetic susceptibility to the structure of molecules. *J Am Chem Soc* 53:1367-1400.
2. Steiner T 2002. The hydrogen bond in the solid state. *Angew Chem Int Ed* 41:48-76.
3. Pimentel GC, McLellan AL 1960. The hydrogen bond. Freeman WH, San Francisco.
4. Nishio M, Hirota M, Umezawa Y 1998. The CH/ π interaction: evidence, nature and consequences. Wiley-VCH, New York.
5. Jeffrey GA 1997. An introduction to hydrogen bonding. Oxford University Press, Oxford.
6. Pauling L 1939. The nature of the chemical bond. Cornell University Press, Ithaca, New York.
7. Desiraju GR, Steiner T 1999. The weak hydrogen bond in structural chemistry and biology, cap.1, 1-28, Oxford University Press, Oxford.
8. DeLaat AM, Ault BS 1987. Infrared matrix isolation study of hydrogen bonds involving C-H bonds: alkynes with oxygen bases. *J Am Chem Soc* 109:4232-4236.
9. Allerhand A, Schleyer PvR 1963. A survey of C-H groups as proton donors in hydrogen bonding. *J Am Chem Soc* 85:1715-1723.
10. Steiner T, Saenger W 1993. Role of C-H \cdots O hydrogen bonds in the coordination of water molecules. Analysis of neutron diffraction data. *J Am Chem Soc* 115:4540-4547.
11. Desiraju GR 1991. The C-H \cdots O hydrogen bonds in crystals: what is it? *Acc Chem Res* 24:290-296.
12. Umeyama H, Morokuma K 1977. The origin of hydrogen bonding. An energy decomposition study. *J Am Chem Soc* 99:1316-1332.
13. Weiss SM, Brandl M, Sühnel J, Pal D, Hilgenfeld R 2001. More hydrogen bonds for the (structural) biologist. *Trends Biochem Sci* 26:521-523.
14. Steiner T, Desiraju GR 1998. Distinction between the weak hydrogen bond and the van der Waals interaction. *Chem Commun* 891-892.
15. Chalmers JM, Griffiths PR 2002. Handbook of vibrational spectroscopy, vol.3, John Wiley & Sons, Chichester.
16. Cramer CJ 2002. Essentials of computational chemistry. Theories and Models. John Wiley & Sons, Chichester.
17. Becke AD 1993. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J Chem Phys* 98:5648-5652.
18. Lee C, Yang W, Parr RG 1988. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys Rev B* 37:785-789.
19. Hariharan PC, Pople JA 1973. Influence of polarization functions on molecular-orbital hydrogenation energies. *Theor Chim Acta* 28:213-222.
20. Svensson M, Humbel S, Froese RDJ, Matsubara T, Sieber S, Morokuma K 1996. ONIOM: a multilayered integrated MO + MM method for geometry optimizations and single point energy predictions. A test for Diels-Alder reactions and Pt(P(t-Bu)₃)₂ + H₂ oxidative addition. *J Phys Chem* 100:19357-19363.
21. Matsubara T, Sieber S, Morokuma K 1996. A test of the new "Integrated MO + MM" (IMOMM) method for the conformational energy of ethane and n-Butane. *J Quantum Chem* 60:1101-1109.
22. Humbel S, Sieber S, Morokuma K 1996. The IMOMO method: integration of different levels of molecular orbital approximations for geometry optimization of large

- systems: test for n-butane conformation and S_N2 reaction: $RCI+Cl$. *J Chem Phys* 105:1959-1967.
23. Liddel U, Wulf OR 1933. The character of the absorption of some amines in the near infra-red. *J Am Chem Soc* 55:3574-3583.
24. Hendricks SB, Wulf OR, Hilbert GE, Liddel U 1936. Hydrogen bond formation between hydroxyl groups and nitrogen atoms in some organic compounds. *J Am Chem Soc* 58:1991-1996.
25. Lutz BTG, van der Maas JH 1997. The sensorial potentials of the OH stretching mode. *J Mol Struct* 436-437:213-231.
26. Bratos S, Ratajczak H, Vio P 1991. Properties of H-bonding in the infrared spectral range. Hydrogen-bonded liquids, editado por Dore JC e Teixeira J, 221-235, Kluwer Academic, Netherlands.
27. Buckingham AD 1997. The hydrogen bond: an electrostatic interaction? Theoretical treatments of hydrogen bonding, editado por Hadzi D, 2-12, John Wiley & Sons, Chichester.
28. Lutz BTG, Jacob J, van der Maas JH 1996. Vibrational spectroscopic characteristics of $=C-H\cdots O$ and $N-H\cdots \pi$ interaction in crystalline N-(2,6-dimethylphenyl)-5-methylisoxazole-3-carboxamide. *Vib Spectrosc* 12:197-206.
29. Huggins CM, Pimentel GC 1955. Infrared intensity of the C-D stretch of chloroform-d in various solvents. *J Chem Phys* 23:896-898.
30. Lord RC, Nolin B, Stidham HD 1955. Quantitative study of the bonding of chloroform-d in various solvents by infrared spectrometry. *J Am Chem Soc* 77:1365-1368.
31. Gilli G, Gilli P 2000. Towards an unified hydrogen-bond theory. *J Mol Struct* 552:1-15.
32. Lutz BTG, van der Maas JH, Kanters JA 1994. Spectroscopic evidence for interaction in crystalline steroids and reference compounds. *J Mol Struct* 325:203-214.
33. Boryczka S, Rozenberg MS, Schreurs AMM, Kroon J, Starikovd EB, Steiner T 2001. A short $C-H\cdots N$ hydrogen bond with a very strong IR spectroscopic effect. *New J Chem* 25:1111-1113.
34. Lutz B, Kanters JA, van der Maas JH, Kroon J, Steiner T 1998. Spectroscopic and structural evidence for the hydrogen bond nature of $C\equiv C-H\cdots C=C$ contacts in ethynyl steroids. *J Mol Struct* 440:81-87.
35. Rozenberg M, Loewenschuss A, Marcus Y 2000. An empirical correlation between stretching vibration redshift and hydrogen bond length. *Phys Chem Chem Phys* 2:2699-2702.
36. Badger RM, Bauer SH 1937. Spectroscopic studies of the hydrogen bond, II. The shift in O-H vibrational frequency in formation of a hydrogen bond. *J Chem Phys* 5:839-851.
37. Iogansen AV 1999. Direct proportionality of the hydrogen bonding energy and the intensification of the stretching $\nu(XH)$ vibration in infrared spectra. *Spectrochim Acta* A55:1585-1612.
38. George WO, Lewis R 2002. Hydrogen bonding. Handbook of vibrational spectroscopy, editado por Chalmers JM e Griffiths PR, vol.3, 1919-1934, John Wiley & Sons, Chichester.
39. Steiner T, Lutz B, van der Maas J, Veldman N, Schreurs AMM, Kroon J, Kanters JA 1997. Spectroscopic evidence for cooperativity effects involving $C-H\cdots O$ hydrogen bonds: crystalline mestranol. *Chem Commun* 191-192.
40. Pemberton RS, Shurvell HF 1995. Raman spectroscopic study of complex formation between p-cresol and propionitrile. *J Raman Spectrosc* 26:373-380.
41. Girling RB, Shurvell HFA 1998. Raman spectroscopic study of complex formation between o-cresol and propionitrile. *Vib Spectrosc* 18:77-82.

42. Teixeira-Dias JJC, Batista de Carvalho LAE, Ribeiro-Claro PJA 1992. Conformational studies on organic liquids, em *Molecular liquids: new perspectives in physics and chemistry*, editado por JJC Teixeira-Dias, 147-156, Kluwer Academic Publishers.
43. Lamcharfi E, Kunesch G, Meyer C, Robert B 1995. Investigation of cyclodextrin inclusion compounds using FT-IR and Raman spectroscopy. *Spectrochim Acta* A51:1861-1870.
44. García-Zubiri IX, González-Gaitano G, Sánchez M, Isasi JR 2003. FTIR study of dibenzofuran-2-carboxylic acid and its complexes with β -cyclodextrin. *Vib Spectrosc* 33:205-213.
45. Rossi B, Verrocchio P, Viliani G, Scarduelli G, Guella G, Mancini I 2006. Vibrational properties of inclusion complexes: the case of indomethacin-cyclodextrin. *J Chem Phys* 125:044511(1)-044511(7).
46. Szenté, L., 1996, editado por Szejtli L. e Osa T. em: Atwood J. E., Davies J. E. D., MacNiol D. D., Vögtle F., Lehn J.-M., *Comprehensive supramolecular chemistry*, vol.3, cap.8, 253-278, Pergamon, Oxford.
47. Spivey R, Swofford R 1999. Inclusion complexes of N-benzoyl-D-leucine and N-benzoyl-L-leucine with β -cyclodextrin by Raman spectroscopy. *Appl Spectrosc* 53:435-438.
48. Amado AM, Ribeiro-Claro PJA 2000. Selection of substituted benzaldehyde conformers by the cyclodextrin inclusion process: a Raman spectroscopic study. *J Raman Spectrosc* 31:971-978.
49. Amado AM, Moreira da Silva AM, Ribeiro-Claro PJA, Teixeira-Dias JJC 1994. Meta-substituted styrene molecules included in cyclodextrins: a Raman Spectroscopic study. *J Raman Spectrosc* 25:599-605.
50. Ribeiro-Claro PJA, Amado AM, Teixeira-Dias JJC 1996. Substituted styrene molecules included in cyclodextrins: a Raman spectroscopic Study. Part II. *J Raman Spectrosc* 27:155-161.
51. Moreira da Silva AM, Amado AM, Ribeiro-Claro PJA, Empis J, Teixeira-Dias JJC 1995. β -cyclodextrin complexes of benzaldehyde, vanilin and cinnamaldehyde: a Raman spectroscopic study. *J Carb. Chem* 14:677-684.
52. Iliescu T, Baia M, Miclaus V 2004. A Raman spectroscopic study of the diclofenac sodium- β -cyclodextrin interaction. *Eur J Pharm Sci* 22:487-495.
53. Choi S-H, Ryu E-N, Ryoo JJ, Lee K-P 2001. FT-Raman spectra of o-, m-, and p-nitrophenol included in cyclodextrins. *J Incl Phenom Macro Chem* 40:271-274.
54. Ribeiro-Claro PJA, Amorim da Costa AM, Vueba ML, Pina ME, Amado AM 2006. Para-halogenated benzaldehyde molecules included in cyclodextrins: a combined spectroscopic and thermal analysis. *J Raman Spectrosc* 37:472-479.
55. Veiga F, Teixeira-Dias JJC, Kedzierewicz F, Sousa A, Maincent P 1996. Inclusion complexation of tolbutamide with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Int J Pharm* 129:63-71.
56. Redenti E, Zanol M, Ventura P, Fronza G, Comotti A, Taddey P, Bertoluzza A 1999. Raman and solid state ^{13}C -NMR investigation of the structure of the 1:1 amorphous piroxicam: β -cyclodextrin inclusion compound. *Biospectroscopy* 5:243-251.
57. Weinhold F 1997. Nature of H-bonding in clusters, liquids, and enzymes: an ab initio, natural bond orbital perspective. *J Mol Struct(Theochem)* 398-399:181-197.
58. Reed AE, Curtiss LA, Weinhold F 1988. Intermolecular interactions from a Natural Bond Orbital, donor-acceptor viewpoint. *Chem Rev* 88:899-926.
59. Rablen PR, Lockman JW, Jorgensen WL 1998. Ab initio study of hydrogen-bonded complexes of small organic molecules with water. *J Phys Chem A* 102:3782-3797.

60. Lipkowitz KB 1998. Applications of computational chemistry to the study of cyclodextrins. *Chem Rev* 98:1829-1873.
61. Liu L, Guo Q-X 2004. Use of quantum chemical methods to study cyclodextrin chemistry. *J Incl Phenom Macro Chem* 50:95-103.
62. Rudyak VY, Avakyan VG, Nazarov VB, Voronezhcheva NI 2006. DFT calculation of α -cyclodextrin dimers. Contribution of hydrogen bonds to the energy of formation. *Russ Chem Bull Int Ed* 55:1337-1345.
63. Braga SS, Ribeiro-Claro PJA, Pillinger M, Gonçalves IS, Fernandes AC, Pereira F, Romão CC, Correia PB, Teixeira-Dias JJC 2003. Interactions of omeprazole and precursors with β -cyclodextrin host molecules. *J Incl Phenom Macro Chem* 47:47-52.
64. Braga SS, Gonçalves IS, Pillinger M, Ribeiro-Claro PJA, Teixeira-Dias JJC 2001. Experimental and theoretical study of the interaction of molybdenocene dichloride (Cp_2MoCl_2) with β -cyclodextrin. *J Organomet Chem* 632:11-16.
65. Braga SS, Gonçalves IS, Ribeiro-Claro PJA, Lopes AD, Pillinger M, Teixeira-Dias JJC, Rocha J, Romão CC 2002. Encapsulation of cyano(cyclopentadienyl) complexes of iron with β -cyclodextrin. *Supramol Chem* 14:359-366.
66. Fernandes JA, Lima S, Braga SS, Pillinger M, Rodriguez-Borges JE, Ribeiro-Claro PJA, Teixeira-Dias JJC, Gonçalves IS 2005. Experimental and Theoretical Study of the Encapsulation of a Linear Oligo(ferrocenylsilane) Trimer with β -Cyclodextrin. *Eur J Inorg Chem* 4729-4734.
67. Lima S, Gonçalves IS, Ribeiro-Claro PJA, Pillinger M, Lopes AD, Ferreira P, Teixeira-Dias JJC, Rocha J, Romão CC 2001. Interactions of cationic and neutral molybdenum complexes with β -cyclodextrin host molecules. *Organometallics* 20:2191-2197.
68. Braga SS, Sá ferreira RA, Gonçalves IS, Ribeiro-Claro P, Pillinger M, Rocha J, Teixeira-Dias JJC, Carlos LD 2002. Study of the inclusion compound formed between a luminescent europium(III) β -diketonate complex and γ -cyclodextrin. *J Incl Phenom Macrocyclic Chem* 44:261-265.
69. Braga SS, Ribeiro-Claro P, Pillinger M, Gonçalves IS, Pereira F, Fernandes AC, Romão CC, Correia PB, Teixeira-Dias JJC 2003. Encapsulation of sodium nimesulide and precursors in β -cyclodextrin. *Org Biomol Chem* 1:873-878.
70. Fernandes JA, Lima S, Braga SS, Ribeiro-Claro P, Rodriguez-Borges JE, Teixeira C, Pillinger M, Teixeira-Dias JJC, Gonçalves IS 2005. Inclusion complex formation of diferrocenyldimethylsilane with β -cyclodextrin. *J Organomet Chem* 690:4801-4808.
71. Fernandes JA, Lima S, Braga SS, Pillinger M, Ribeiro-Claro P, Rodriguez-Borges JE, Lopes AD, Teixeira-Dias JJC, Gonçalves IS 2005. Inclusion complexation of dimeric and trimeric oligo(ferrocenyldimethylsilanes) with γ -cyclodextrin. *Organometallics* 24:5673-5677.
72. Mu T-W, Liu L, Li X-S, Guo Q-X 2001. A theoretical study on the inclusion complexation of cyclodextrins with radical cations and anions. *J Phys Org Chem* 14:559-565.
73. Guzzo MR, Uemi M, Donate PM, Nikolaou S, Machado AEH, Okano LT 2006. Study of the complexation of fisetin with cyclodextrins. *J Phys Chem A* 110:10545-10551.
74. Pinjari RV, Joshi KA, Gejji SP 2006. Molecular electrostatic potentials and hydrogen bonding in α -, β -, and γ -cyclodextrins. *J Phys Chem A* 110:13073-13083.
75. Fu Y, Liu L, Guo QX 2002. A theoretical study on the inclusion complexation of cyclodextrins with inorganic cations and anions. *J Incl Phenom Macro Chem* 43:223-229.
76. Zhang P, Polavarapu PL 2007. Spectroscopic investigation of the structures of dialkyl tartrates and their cyclodextrin complexes. *J Phys Chem A* 111:858-871.

Capítulo III

*Ligações de hidrogénio C-H...O=C em líquidos :
sistemas orgânicos de pequena dimensão*

*“Se queremos progredir
não devemos repetir a história
mas fazer uma história
nova a cada dia”*

M. Ghandi

ÍNDICE

Capítulo III

<i>Ligações de hidrogénio C-H\cdotsO=C em líquidos: sistemas orgânicos de pequena dimensão</i>	55
---	----

RESUMO	57
III.1 – Ligações de hidrogénio C-H \cdots O e o espectro vibracional	58
III.1.1 – Historial controverso: desvio para o azul	58
III.1.2 – Evidência de ligações C-H \cdots O=C no espectro vibracional	62
III.2 – Ligações C-H \cdots O na ciclohexenona revelam o comportamento espectroscópico dos doadores C(sp ³)-H e C(sp ²)-H	67
III.2.1 – Objectivos	67
III.2.2 – Resultados e discussão	67
III.2.2.1 – Cálculos <i>ab initio</i>	67
III.2.2.2 – Espectroscopia vibracional	71
III.2.3 – Conclusões	79
III.3 – Evidência de ligações C-H \cdots O nos modos ν C=O e ν C-H da dihidrocinarina	81
III.3.1 – Objectivos	81
III.3.2 – Resultados e discussão	82
III.3.2.1 – Atribuição do espectro vibracional	82
III.3.2.2 – Estudo combinado de espectroscopia vibracional e cálculos <i>ab initio</i>	90
III.3.3 – Conclusões	100
III.4 – Bibliografia	101

RESUMO

A ocorrência de ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$ envolvendo aceitadores do tipo carbonilo, em sistemas em fase líquida, ciclohexenona e dihidrocinarona, foi investigada por espectroscopia vibracional apoiada por cálculos de orbitais moleculares do tipo *ab initio*. Pretendeu-se deste modo ampliar o conhecimento fundamental dos mecanismos de auto-associação molecular envolvendo ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$ em fase líquida, no que respeita às suas propriedades espectroscópicas.

De maneira a obter informação relativa aos grupos envolvidos na ligação $C-H\cdots O$ e à energia da interacção, foram realizados estudos de diluição em diversos solventes e estudos de variação de temperatura. Adicionalmente à utilização, de forma complementar, da espectroscopia de absorção no Infravermelho e da espectroscopia de difusão de Raman recorreu-se à utilização da dispersão inelástica de neutrões (INS). Esta técnica, realizada através de projectos de colaboração com o “*Rutherford Appleton Laboratory – ISIS neutron source*”, permite o estudo dos modos de baixa frequência e evidencia aqueles em que os átomos de hidrogénio participam mais activamente, sendo portanto a técnica de eleição para tentar observar directamente o modo de vibração de baixa frequência correspondente à ligação intermolecular $H\cdots O$.

No presente Capítulo, o interesse no estudo de ligações de hidrogénio do tipo $C-H\cdots O$ justifica-se não só pela sua relevância numa ampla variedade de fenómenos químicos e bioquímicos¹, conforme foi evidenciado no Capítulo I, mas também pelas suas propriedades espectroscópicas peculiares, bastante distintas das ligações de hidrogénio convencionais.

A informação experimental existente acerca do papel deste tipo de ligações para sistemas em fase líquida é relativamente escassa, dadas as dificuldades acrescidas devido ao carácter dinâmico dos sistemas e à própria natureza fraca deste tipo de interacção. Estas ligações assumem particular importância como forças estabilizantes na determinação de estruturas e mecanismos de solvatação. Neste contexto, é de considerável interesse investigar a ocorrência de ligações de hidrogénio do tipo $C-H\cdots O$ para sistemas em fase líquida.

A maioria da evidência experimental obtida para este tipo de interacção em fase líquida foi estabelecida, durante os últimos anos²⁻²⁶, por espectroscopia vibracional (de difusão de Raman e de absorção no Infravermelho) e de ressonância magnética nuclear (RMN). Tendo em conta que no âmbito da presente dissertação se pretende evidenciar a aplicabilidade da espectroscopia vibracional no estudo de ligações de hidrogénio do tipo $C-H\cdots O$, apenas os comportamentos vibracionais dos osciladores envolvidos na ligação serão considerados.

Este Capítulo encontra-se basicamente dividido em três partes. Na primeira parte, é feita uma introdução às ligações de hidrogénio do tipo $C-H\cdots O$ no contexto dos seus comportamentos vibracionais. Nas segunda e terceira partes, são apresentados os resultados de dois estudos, por espectroscopia vibracional complementada com cálculos *ab initio*, em sistemas líquidos relativamente simples, a ciclohexenona (cHx) e a dihidrocurmarina (DHCOU). Estes sistemas foram escolhidos pela possibilidade de apresentarem interacções do tipo $C-H\cdots O$, uma vez que possuem potenciais grupos doadores de hidrogénio, grupos $C-H$, de diferente natureza, e grupos aceitadores de hidrogénio, grupos $C=O$, que podem funcionar como sonda vibracional.

III.1 – Ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$ e o espectro vibracional

III.1.1 – Historial controverso: desvio para o azul

O conceito de que um átomo de hidrogénio ligado a um átomo de carbono poderia formar uma ligação foi experimentalmente evidenciado, pela primeira vez, num artigo de *Kumler*²⁷ em 1935. Neste trabalho, no qual se estudou a relação existente entre as constantes

dieléctricas e os momentos dipolares de vários grupos orgânicos, foi especificamente sugerido que as moléculas de HCN se associavam através de ligações de hidrogénio num arranjo linear $H-C \equiv N \cdots H-C \equiv N \cdots H-C \equiv N$.

No entanto, a introdução formal de ligações de hidrogénio fracas envolvendo grupos C-H como doadores é usualmente atribuída a um trabalho publicado em 1937 por *Glasstone*²⁸. Nesse trabalho foram estudadas as interações existentes no sistema acetona-clorofórmio, através de medições de polarização, por ser conhecido que as misturas destes dois compostos apresentavam propriedades físicas anormais, tais como a constante dieléctrica, a viscosidade e a pressão de vapor. De maneira a poder explicar estes comportamentos, *Glasstone* propôs a existência de interações intermoleculares entre o grupo carbonilo da acetona (grupo aceitador de hidrogénio) e o grupo C-H do clorofórmio (grupo doador de hidrogénio).

Apesar deste e outros trabalhos terem contribuído significativamente para o estudo de ligações de hidrogénio do tipo C-H...O foi *Sutor*^{29,30} que, no início da década de 60, efectuou o primeiro estudo sistemático deste tipo de ligação em cristais. Este trabalho, no qual foi inclusivamente atribuído o valor de 2.6 Å para a soma de *van der Waals* da distância H...O, foi alvo de grande criticismo por parte de *Donohue*³¹, em 1968. O campo de estudo de *Sutor* foi a análise de estruturas de purinas e pirimidinas, como por exemplo a teofilina, teobromina e caféina, compostos nos quais é frequente observar-se a existência de ligações de hidrogénio C-H...O, como se vai verificar no Capítulo IV.

Em 1982, *Taylor* e *Kennard*³² iniciaram um novo período no estudo das ligações C-H...O com um trabalho de cristalografia, no qual apresentaram evidências experimentais conclusivas e incontestáveis da existência deste tipo de ligações. Contactos entre grupos C-H e átomos de oxigénio, cloro, enxofre e azoto foram cuidadosamente examinados por difracção de neutrões em 113 estruturas cristalinas de compostos orgânicos. Estes autores demonstraram que os contactos C-H...O são electrostáticos e que ocorrem dentro de certas distâncias (C...O, 3.0-4.0 Å) e ângulos (C-H...O, 90-180°). Trabalhos posteriores sobre ligações C-H...O em alguns compostos cloroalquilos³³ e moléculas com grupos terminais alquilo³⁴ contribuíram, para que, numa publicação de *Desiraju*³⁵ em 1991, as críticas pronunciadas por *Donohue*³¹ fossem refutadas.

A partir do início da década de 90, a ligação C-H...O começou a ser objecto de alguns trabalhos computacionais, nomeadamente em relação ao valor de energia associada³⁶, iniciando-se assim o estudo deste tipo de interacção em maior profundidade. Neste mesmo período de tempo, cálculos teóricos do tipo *ab initio* manifestaram os primeiros sinais da

ocorrência, no espectro vibracional, de um desvio para maiores frequências do modo ν_{C-H} , como resultado de um encurtamento dessa ligação quando em contacto com o átomo aceitador³⁷⁻⁴⁰ – efeito actualmente designado por “*desvio para o azul*”. No entanto, este resultado era totalmente inesperado, pelo que os cientistas que realizavam estes cálculos o associaram a um erro inerente ao método de cálculo, e apresentaram os resultados obtidos sem estabelecerem qualquer tipo de comentário relativamente a esse aumento de frequência.

Com o decorrer do tempo, tornou-se consenso geral de que um doador de protão $C-H$ e vários aceptadores poderiam aproximar-se um do outro de tal maneira que as características geométricas da ligação de hidrogénio $C-H\cdots O$ imitavam as das ligações de hidrogénio convencionais. Adicionalmente, verificou-se um crescimento de evidências de que outros aspectos da interacção, como por exemplo, topologia da densidade electrónica⁴¹, se ajustavam às clássicas características das ligações de hidrogénio convencionais.

Surpreendentemente, a espectroscopia de absorção no Infravermelho e de difusão de Raman pouco contribuíram para o ressurgimento das ligações de hidrogénio envolvendo grupos doadores $C-H$. No período de 1982 a 1996, dos cerca de 1000 artigos publicados sobre ligações de hidrogénio, apenas 9 se referiam a ligações envolvendo grupos doadores $C-H$, sendo a evidência por espectroscopia vibracional notavelmente ausente⁴².

Em 1997/1998, a obtenção de evidências, quer experimental (obtida por espectroscopia vibracional)⁴³ quer teórica,⁴⁴ da existência de um subconjunto particular de ligações de hidrogénio envolvendo grupos $C-H$ com comportamentos espectroscópicos distintos dos apresentados pelas ligações de hidrogénio convencionais, nomeadamente o desvio para o azul, iniciou uma discussão polémica acerca do facto de estas interacções poderem ser caracterizadas como verdadeiras ligações de hidrogénio.

Numa tentativa de explicar o desvio para o azul de frequências de elongação $C-H$ para algumas ligações $C-H\cdots O$, surgiram duas linhas de pensamento. Em qualquer um dos casos, era conhecimento aceite de que o desvio de frequência resulta do encurtamento da ligação $C-H$ quando se verifica a ligação de hidrogénio.

Um grupo, representado por Hobza e col., viam tais ligações como fundamentalmente diferentes das ligações convencionais e detentoras de um conjunto de propriedades específicas. Inicialmente, estas ligações foram designadas por “*anti-ligação de hidrogénio*”⁴⁴⁻⁴⁶, termo que entretanto foi considerado inadequado, passando a ser utilizada a designação “*ligação de hidrogénio imprópria com desvio para o azul*”^{45,47-49}. A origem do encurtamento da ligação é atribuída em parte a efeitos de dispersão mas primariamente a “*um mecanismo de dois passos que*

envolve transferência de densidade electrónica do aceitador de protão para a parte remota do doador de protão, originando uma relaxação estrutural, o que por sua vez leva a um encurtamento da ligação (C-H)”⁵. Deste modo, as ligações convencionais e as ligações com desvio para o azul eram julgadas como tendo diferentes origens.

Em contraste a esta teoria, surge um outro grupo representado por Scheiner e col.⁵⁰⁻⁵² que defendiam que, apesar do desvio observado espectralmente ser diferente do observado para as ligações convencionais, não existem diferenças básicas na natureza das ligações com desvio para o azul relativamente às ligações convencionais. Num estudo apresentado por Gu⁵⁰, envolvendo sistemas do tipo $F_nH_{3-n}C-H\cdots O$ com $n=1-3$, afirmou-se que “*As mesmas forças actuam em ambos os tipos de ligação de hidrogénio: electrostática, polarização, transferência de carga e dispersão empurram o átomo de hidrogénio para longe do átomo doador (C), enquanto que a energia de troca arranca-o para longe do aceitador (O). Enquanto que o primeiro conjunto é ligeiramente mais forte que a energia de troca para uma ligação O-H...O, no caso das C-H...O, o último domina, por pouco, o primeiro conjunto. O desvio para o vermelho (azul) no caso da ligação O-H...O (C-H...O) sucede então naturalmente a partir desta elongação (contração) da ligação*”⁵⁰.

Deste modo, pode-se assumir que existem dois conjuntos de forças que actuam simultaneamente na ligação C-H, nomeadamente forças que provocam o aumento do comprimento da ligação (electrostáticas, polarização, dispersão e transferência de carga) e forças que provocam a diminuição do comprimento da ligação (energia de troca). O efeito final na ligação é o resultado líquido destas forças. Assim sendo, as forças dominantes num determinado tipo de ligação $C-H\cdots O$ estabelecem a contração ou elongação da ligação C-H. Esta interpretação permite explicar o diferente comportamento espectroscópico dos osciladores C-H envolvendo átomos de carbono com diferentes hibridizações (C_{sp^3} , C_{sp^2} e C_{sp}), como será discutido posteriormente.

Estes últimos estudos permitiram caracterizar as ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$ como verdadeiras ligações de hidrogénio. No entanto, nenhum deles providenciou uma descrição detalhada da origem física das ligações de hidrogénio com desvio para o azul. Este tema foi posteriormente desenvolvido em alguns estudos teóricos⁵³⁻⁵⁷, considerando-se de particular interesse o estudo efectuado por Li e col.⁵⁵. Neste trabalho, verificou-se que a presença deste desvio não ocorre unicamente em sistemas centrados em átomos de carbono, mas pode também ocorrer em sistemas cujos grupos doadores sejam grupos N-H, Si-H e P-H

tendo-se verificado substanciais desvios para o azul dos sistemas $F_2N-H\cdots FH$, $F_3Si-H\cdots OH_2$, $F_2P-H\cdots NH_3$ e $F_2P-H\cdots OH_2$.

III.1.2 – Evidência de ligações $C-H\cdots O=C$ no espectro vibracional

A falta de evidências espectroscópicas apropriadas da presença de ligações de hidrogénio do tipo $C-H\cdots O$ em sistemas em fase líquida deve-se, como já referido, ao carácter dinâmico dos sistemas e à própria natureza fraca destas ligações. O facto dos sistemas serem dinâmicos torna-os mais difíceis de estudar por espectroscopia vibracional, uma vez que se verifica quer o alargamento das bandas quer tempos de vida da interacção mais curtos. O facto das interacções do tipo $C-H\cdots O$ serem de natureza fraca, torna menos evidentes os seus efeitos no espectro vibracional. Adicionalmente, existem ainda outros fenómenos bem estabelecidos, como por exemplo a ressonância de Fermi, que podem perturbar a análise deste tipo de ligações, uma vez que podem manifestar-se de uma forma idêntica. Deste modo, torna-se conveniente estabelecer os comportamentos dos modos vibracionais dos fragmentos envolvidos na interacção, nomeadamente dos modos localizados, de elongação do grupo $C-H$ (ν_{CH}) e, no caso de compostos de carbonilo, no modo de elongação do grupo $C=O$ ($\nu_{C=O}$).

Ligações de hidrogénio fortes, por exemplo $O-H\cdots O$, possuem um comportamento bastante característico quando estudadas por espectroscopia vibracional. Apresentam sempre um deslocamento da frequência de elongação do oscilador $X-H$ para menores valores (“*desvio para o vermelho*”) e um aumento substancial da intensidade da banda de elongação $X-H$ ⁵⁸. A diminuição da frequência de elongação ocorre devido ao aumento do comprimento da ligação $X-H$, quando se estabelece o contacto com o átomo do grupo aceitador⁵⁸.

Em contraste, as ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$, possuem um comportamento distinto do apresentado por ligações de hidrogénio convencionais, verificando-se teoricamente e experimentalmente desvios da frequência de elongação do oscilador $C-H$ quer para menores (*desvio para o vermelho*)⁵⁹⁻⁶⁷ quer para maiores frequências (*desvio para o azul*)^{2-19,43,45,67-71} com um respectivo aumento ou diminuição do comprimento da ligação. Adicionalmente, pode verificar-se (não é no entanto uma regra) uma diminuição da intensidade da banda de elongação do grupo $C-H$ ^{10,71,72}.

Uma explicação para este diferente comportamento reside na natureza do doador de hidrogénio, nomeadamente na hibridização do átomo de carbono. Cálculos *ab initio*⁷³⁻⁷⁵ demonstraram que a hibridização do átomo de carbono influencia a determinação dos efeitos

que o estabelecimento deste tipo de interacção provoca na ligação $C-H$ (aumento ou diminuição do comprimento da ligação). Em sistemas que envolvam átomos de carbono com hibridização sp , ligações do tipo $\equiv C-H \cdots O$, verifica-se o tradicional desvio para menores frequências (*desvio para o vermelho*). Nesta situação o grupo doador é muito ácido e a interacção comporta-se como uma interacção forte. Para sistemas nos quais o átomo de hidrogénio se encontra ligado a átomos de carbono com hibridização sp^2 e sp^3 , a ligação $C-H$ é afectada diferentemente. Carbonos com hibridização sp^2 podem exibir quer um aumento quer uma diminuição do comprimento da ligação $C-H$, enquanto que na maioria dos casos de sistemas envolvendo átomos de carbono com hibridização sp^3 verificou-se uma contracção da ligação com consequente desvio para o azul. Estes resultados teóricos são reforçados com alguns trabalhos experimentais nos quais se verificou desvios para o azul em carbonos sp^2 e sp^3 , por exemplo em estudos efectuados na ciclohexanona¹² e no 4-fluorbenzaldeído⁸. No entanto, o comportamento espectroscópico de ligações $C_{sp^3}-H \cdots O$ e $C_{sp^2}-H \cdots O$, no que respeita ao comportamento do oscilador $C-H$, ainda não se encontra completamente esclarecido. Assim sendo, estudos que permitam diferenciar este tipo de ligações são de considerável importância.

Adicionalmente, ao ser interpretado o comportamento espectroscópico do modo de elongação do grupo $C-H$, deve-se ter em consideração que o desvio para o azul verificado experimentalmente em alguns contactos $C-H \cdots O$ pode manifestar-se quer sob a forma de um desvio global da banda ν_{CH} para maiores frequências^{2-4,6,15,16,43,45,68,70,71}, quer através da presença de uma nova banda, distinta da banda ν_{CH} “livre” e atribuída ao modo ν_{CH} “ligado”^{5,8,14,69}. No estudo espectroscópico realizado em 2002 por *Ribeiro-Claro* e col.⁸, para o sistema 4-fluorbenzaldeído, verificou-se, como singularidade notável, a detecção de uma banda atribuída ao modo ν_{CH} em ligação de hidrogénio com o oxigénio carbonílico, $\nu_{C-H(\cdots O)}$.

Relativamente aos efeitos da interacção $C-H \cdots O$ nos modos do aceitador do tipo carbonilo ($\nu_{C=O}$), que apresenta quer frequências de elongação características quer elevada sensibilidade a variações do ambiente químico, distinguem-se duas situações: a possibilidade de se formarem duas bandas atribuíveis ao $C=O$ livre e ao $C=O$ ligado (desdobramento do modo $\nu_{C=O}$) ou a observação de assimetria no perfil da banda de elongação $\nu_{C=O}$. O aparecimento de duas bandas na região do grupo carbonilo quando seria de esperar apenas uma (normalmente designado por desdobramento da banda do carbonilo) é um dos fortes indicadores da presença de ligações de hidrogénio envolvendo esse grupo como aceitador. De facto, a formação da ligação de hidrogénio com o átomo de oxigénio enfraquece a dupla ligação do carbonilo, desviando a vibração da $\nu_{C=O}$ para menores valores de frequência. As

duas bandas observadas no espectro vibracional podem assim ser atribuídas aos grupos carbonilo livres (banda de maior frequência) e aos grupos carbonilo envolvidos em ligações de hidrogénio (banda de menor frequência). Adicionalmente, podem também verificar-se situações em que as duas bandas observadas na região de elongação do grupo carbonilo não se encontram suficientemente resolvidas, verificando-se assim um perfil de banda assimétrico. De acordo com *Knapp*⁷⁶⁻⁷⁸, a existência de assimetria no perfil da banda pode ser interpretado como resultado da presença de interacções intermoleculares existentes em fase condensada.

Existem no entanto outras hipóteses para justificar o desdobramento verificado no grupo carbonilo, nomeadamente o equilíbrio conformacional, a ressonância de Fermi, a dimerização/equilíbrio ceto-enólico, dimerização/associação dipolar e as “bandas quentes” (*hot bands*).

Relativamente ao desdobramento provocado pela presença do equilíbrio conformacional, este pode ser justificado por uma alteração no ambiente electrónico do carbonilo, resultante das diferentes orientações do grupo, com a consequente alteração na frequência de vibração.

Outra das hipóteses que pode explicar o desdobramento é o equilíbrio ceto-enólico. Este equilíbrio, quando existe, não provoca directamente um desdobramento do modo atribuído ao grupo carbonilo, uma vez que a frequência de elongação do enol $C-O$ é muito distinta da frequência de elongação do carbonilo $C=O$. No entanto, permite a ocorrência de uma interacção $C=O \cdots H-O$ entre o grupo $O-H$ do enol e o $C=O$ da cetona, uma vez que coexistem ambas as formas cetónicas e enólicas.

A dimerização por associação dipolar é uma das hipóteses mais consideradas. Neste caso, ocorre uma associação intermolecular verificando-se o alinhamento dipolar entre os dipolos do grupo carbonilo. Este tipo de associação provoca o aparecimento de três bandas na região dos modos de elongação do carbonilo. O aparecimento de uma banda a maiores valores de frequência é devido às espécies que não estão associadas. As restantes, atribuídas às espécies associadas, correspondem à combinação assimétrica (activa em infravermelho) e simétrica (activa em Raman) dos modos $\nu_{C=O}$. A dimerização por associação dipolar é uma hipótese alternativa que compete bastante com as interacções $C-H \cdots O$ para justificar o desdobramento do grupo carbonilo, sendo necessários estudos adicionais que permitam estabelecer a distinção entre estes.

Relativamente às “bandas quentes”, estas ocorrem quando se verifica anarmonicidade e correspondem a transições que não são originadas a partir do nível fundamental, ou seja,

correspondem a transições que ocorrem de um estado vibracional excitado $n=1$ para um estado vibracional $n=2$. A designação de “bandas quentes” é atribuída pelo facto de que ao verificar-se o aumento da população do nível excitado $n=1$ quando a temperatura aumenta, aumenta a probabilidade de ocorrerem transições de $n=1$ para $n=2$ e consequentemente verifica-se o aumento da intensidade relativa da “banda quente”. Devido à anarmonicidade das vibrações a transição $2 \leftarrow 1$ surge a uma frequência inferior à da transição $1 \leftarrow 0$ ou fundamental, o que provoca o aparecimento de uma nova banda.

Em relação à ressonância de Fermi, esta verifica-se quando há uma coincidência na distribuição dos modos vibracionais, isto é, quando a frequência de um sobretom ou de uma banda de combinação (com o mesmo tipo de simetria) têm um valor muito próximo do valor da frequência de transição fundamental e quando envolvem os mesmos átomos. Nesta situação, pode então verificar-se o desdobramento como resultado de um “roubo” de intensidade da banda do sobretom ou de combinação à banda do modo fundamental.

Algumas destas hipóteses, nomeadamente as “bandas quentes” e a ressonância de Fermi, são fáceis de excluir. Assim, se por diminuição da temperatura a banda que se considera ser uma “banda quente” não desaparecer, então não é de facto uma “banda quente”. Adicionalmente, a não-coincidência entre a relação de intensidades (das duas bandas) nos espectros de Raman e de infravermelho, permite excluir o fenómeno da ressonância de Fermi.

É possível também excluir o fenómeno de ressonância de Fermi pelo efeito da temperatura no espectro vibracional. Numa situação destas, espera-se que a temperatura não afecte consideravelmente as posições e intensidades relativas dos modos em ressonância. Se as intensidades se invertem ou igualarem é possível concluir que não se trata de um fenómeno de ressonância de Fermi. A partir dos valores da razão das intensidades relativas dos modos em ressonância (r), obtidos às diferentes temperaturas e dos valores de frequência dos níveis observados (“perturbados”), é possível calcular os valores de frequência dos níveis “não perturbados”, ν_{0_1} e ν_{0_2} , através da seguinte equação:

$$\nu_{0_{1,2}} = \frac{\nu_1 + \nu_2}{2} \pm \frac{\nu_1 - \nu_2}{2} \times \left(\frac{r-1}{r+1} \right) \quad (1)$$

Deste modo, torna-se possível calcular o coeficiente de acoplamento W , utilizando a seguinte expressão:

$$W = \sqrt{\frac{d^2 - d_0^2}{4}} \quad (2)$$

em que d e d_0 correspondem aos valores da separação dos níveis perturbados e não perturbados, respectivamente. Numa situação de ressonância de Fermi, W deverá ser constante no intervalo de temperatura considerado.

Pela realização de estudos de diluição, as intensidades relativas dos dois modos em ressonância são alteradas, desde que efeitos não específicos (como a polaridade do solvente) afectem as posições dos máximos das bandas. Ao verificar-se movimento da posição do máximo da banda correspondente ao modo fundamental que sofre a perturbação, observa-se uma banda a aumentar de intensidade, à medida que ocorre uma aproximação entre o modo fundamental e o sobretom ou banda de combinação.

Considerando a substituição isotópica, espera-se que, ao serem substituídos os prótios por deutérios, todos os modos de vibração da molécula sejam alterados. Consequentemente, caso o desdobramento do modo de elongação do grupo carbonilo seja atribuído à ressonância de Fermi, espera-se que esta seja removida.

Adicionalmente, uma outra forma de excluir a ressonância de Fermi é através da comparação dos espectros de polarização de Raman, I_{VV} e I_{VH} . Se as intensidades relativas dos modos se alterarem ao serem comparados os espectros I_{VV} e I_{VH} , significa que as bandas que compõem o modo em estudo são de diferente natureza. Dado que esta situação é incompatível com o fenómeno da ressonância de Fermi, pode-se excluir este fenómeno como sendo a causa do desdobramento do modo de elongação do carbonilo. Contrariamente, se as intensidades se mantiverem, o teste é por si inconclusivo, podendo ou não a ressonância de Fermi ser considerada como a causa do desdobramento do modo de elongação do carbonilo.

III.2 – Ligações C-H...O na ciclohexenona revelam o comportamento espectroscópico dos doadores C(sp³)-H e C(sp²)-H

III.2.1 – Objectivos

Neste estudo pretende-se explorar a possibilidade de ocorrência de ligações C-H...O na ciclohexenona líquida⁷⁹. Este sistema (2-cyclohexeno-1-ona, cHx), representado na Figura III.1, apresenta doadores de hidrogénio do tipo =C-H e -C-H em posições idênticas relativamente ao grupo aceitador C=O. Neste sentido, a cHx constitui um modelo simples e ideal para comparar os efeitos espectroscópicos das ligações de hidrogénio C-H...O envolvendo grupos doadores C_{sp²}-H e C_{sp³}-H.

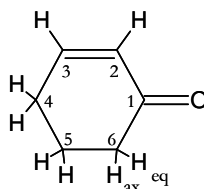


Figura III.1 – Representação esquemática da estrutura molecular da ciclohexenona. Adicionalmente é incluída a numeração dos átomos utilizada ao longo do presente estudo. As abreviaturas *ax* e *eq* são utilizadas para estabelecer a distinção entre os hidrogénios ligados ao C(6), um em posição axial (*ax*) e outro em posição equatorial (*eq*).

Para atingir os objectivos propostos, foram realizados por espectroscopia de infravermelho e Raman, estudos de diluição em diferentes solventes e estudos de variação de temperatura. Complementarmente, foram realizados cálculos *ab initio* para o monómero e para algumas estruturas diméricas consideradas como as mais estáveis.

III.2.2 – Resultados e discussão

III.2.2.1 – Cálculos *ab initio*

Foram preparadas várias estruturas diméricas, estabelecidas com o monómero de menor energia e baseadas em ligações de hidrogénio do tipo C-H...O, por combinação do oxigénio carbonílico (aceitador de protão) com todos os grupos C-H (doador de protão) presentes no sistema cHx. Das várias possíveis combinações doador/aceitador, apenas são consideradas as estruturas diméricas com um valor de energia de dimerização inferior a -5 kJ mol⁻¹, após contabilização do erro de sobreposição de bases (BSSE) e da energia vibracional do ponto zero (sigla em inglês ZPVE) obtidos ao nível da teoria B3LYP/6-31G*.

As geometrias optimizadas para as estruturas diméricas de menor energia encontram-se representadas na Figura III.2 e correspondem todas a mínimos reais (sem frequências de vibração imaginárias) aos níveis B3LYP/6-31G* e MP2/6-31G*. Na Tabela III.1 estão apresentadas as energias de dimerização calculadas para as estruturas diméricas I-V.

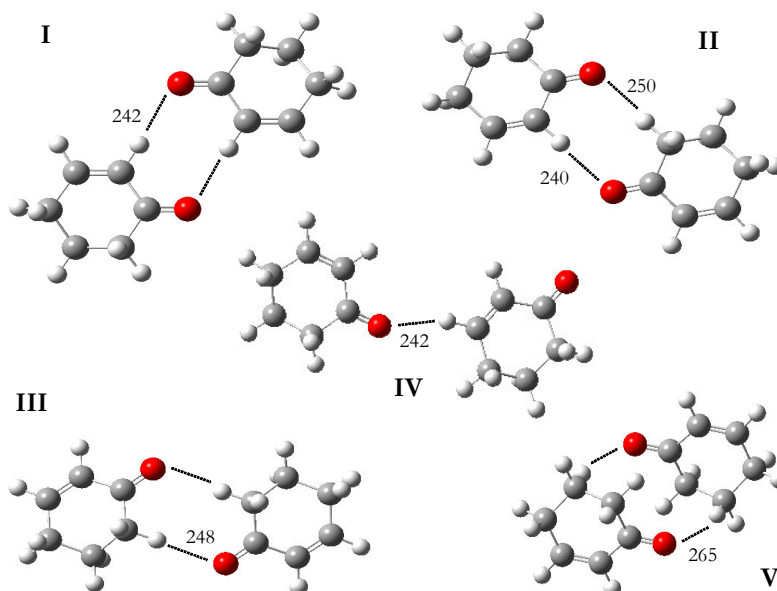


Figura III.2 – Geometrias optimizadas ao nível B3LYP/6-31G* para as estruturas diméricas de menor energia obtidas para a ciclohexenona. Adicionalmente são incluídas para cada dímero as distâncias calculadas em pm das ligações de hidrogénio. Aos níveis MP2/6-31G* e MP2/6-311++G**, as distâncias das ligações de hidrogénio são de uma maneira geral mais curtas por um factor de aproximadamente 0.96 e 0.97, respectivamente.

Tabela III.1 – Energias de dimerização (dímero - 2 × monómero) para as estruturas diméricas de menor energia da ciclohexenona (ΔE , kJmol⁻¹).

Dímero ^[a]	I	II	III	IV	V
MP2/6-311++G**	-21.8	-21.1	[b]	-14.8	-34.2
MP2/6-31G*	-28.7	-26.9	-24.8	-16.2	-30.5
After ZPVE ^[c]	-27.3	-23.9	-22.2	-14.4	-28.7
After CP ^[d]	-13.4	-17.4	-10.7	-8.2	-12.9
B3LYP/6-31G*	-21.0	-21.7	-20.5	-13.4	-17.6
After CP + ZPVE	-9.0	-8.1	-7.5	-6.3	-6.2

[a] Dímeros numerados em acordo com a numeração de átomos apresentada na Figura III.1.

[b] Converte para a forma V durante a optimização de geometria.

[c] ZPVE= energia vibracional do ponto zero.

[d] CP= correcção *contra-peso* do erro de sobreposição de bases (BSSE).

Energia absoluta do dímero I: -615.700666 E_h (MP2/6-311++G**)

-615.330122 E_h (MP2/6-31G*)

-617.341030 E_h (B3LYP/6-31G*)

Analisando a Figura III.2 e a Tabela III.1 verifica-se que, quer as distâncias intermoleculares quer os valores de energia de dimerização calculados para as diferentes ligações $C-H \cdots O$ estão de acordo com o intervalo de valores obtidos para este tipo de interacção em outros sistemas.^{4,7,8,11,12,23,71}

Adicionalmente, verifica-se também que as estruturas diméricas mais estáveis (menor energia) são aquelas que apresentam dois contactos $C-H \cdots O$, como era esperado para a situação de “dímero isolado” (geometrias de entrada baseadas em apenas um contacto tendem a convergir para geometrias com dois contactos durante o processo de optimização de geometrias). Contudo, dado que o factor entálpico não deverá ser o único factor a ser considerado no processo de dimerização, considera-se que as estruturas diméricas baseadas em apenas um contacto, menos penalizadas por factores de entropia, também tenham uma contribuição importante em fase líquida.

No que se refere ao tipo dos doadores $C-H$, os grupos $=C(2)-H$ e $=C(3)-H$ quando envolvidos em ligações de hidrogénio $C-H \cdots O$ dão origem às interacções mais estáveis, considerando as energias corrigidas ($\Delta E = -9.0 \text{ kJ mol}^{-1}$ para a forma I e $\Delta E = -6.3 \text{ kJ mol}^{-1}$ para o contacto simples na forma IV). O grupo $-C(6)-H_{eq}$ promove energias de dimerização baixas: -8.1 kJ mol^{-1} na forma II e -7.5 kJ mol^{-1} na forma III. A estabilização do dímero V, particularmente evidente ao nível MP2, parece estar relacionada com a maximização das interacções de *van der Waals* entre os monómeros. A mesma conclusão pode ser estabelecida pelas distâncias intermoleculares calculadas (Figura III.2). A forma II apresenta a distância $=C(2)-H \cdots O$ mais curta (240 pm) e a distância $-C(6)-H_{eq} \cdots O$ mais longa (250 pm). A forma V apresenta uma distância $-C(5)-H \cdots O$ bastante elevada (265 pm). No conjunto, as distâncias $=C-H \cdots O$ são sempre mais curtas que as distâncias $-C-H \cdots O$. Pela comparação das energias de dimerização das formas I-III, pode-se obter as contribuições individuais dos doadores $C_{sp^2}-H$ e $C_{sp^3}-H$. A energia estabilizante é aproximadamente 4.5 e 3.7 kJ mol^{-1} para cada contacto $C_{sp^2}-H \cdots O$ e $C_{sp^3}-H \cdots O$, respectivamente.

Comparando a energia associada à interacção $C_{sp^3}-H \cdots O$ obtida para este sistema com a correspondente obtida para o sistema ciclohexanona¹², verifica-se que esta é superior no caso da ciclohexenona, demonstrando-se assim que a presença da dupla ligação no sistema ciclohexenona afecta a capacidade do átomo aceitador ($C=O$).

Adicionalmente, foram também avaliados os desvios de frequências aquando da formação de ligações de hidrogénio $C-H \cdots O$. Considerando o modo de elongação do grupo

carbonilo ($\nu_{C=O}$), prevê-se um desvio para menores frequências (do dímero para o monómero) acima dos -20 cm^{-1} , dependendo da forma dimérica considerada. O efeito nos modos de elongação dos grupos $C-H$ (ν_{C-H}) não é tão bem definido: os modos envolvendo os doadores $C_{sp^3}-H$ são no geral desviados para maiores frequências (*desvio para o azul*) por aproximadamente $6-9\text{ cm}^{-1}$, enquanto que no caso de doadores $C_{sp^2}-H$ verificam-se pequenos desvios, quer para maiores quer para menores frequências, no intervalo de -4 a $+2\text{ cm}^{-1}$.

As ordens de ligação (O.L.) de *Wiberg* e as cargas naturais foram utilizadas para investigar a natureza da ligação de hidrogénio. A análise da perturbação de segunda-ordem da interacção doador-aceitador permite obter informações relativas ao tipo e força da interacção intermolecular. A análise das orbitais de ligações naturais (NBO) para os dímeros da CHx de menor energia foi realizada ao nível B3LYP/6-31G*. Na Tabela III.2 encontram-se sumariados os resultados obtidos pela análise NBO, nomeadamente as ordens de ligação de *Wiberg* e os valores das energias de interacção (acima de 2.4 kJ mol^{-1}).

Tabela III.2 – Resultados obtidos pela análise NBO para os dímeros da ciclohexenona de menor energia^[a], realizados ao nível B3LYP/6-31G* (energia de estabilização de segunda-ordem em kJ mol^{-1}).

Dímero	Interacção	Energia ^[b]	Interacção ^[c]	O. L. Wiberg
I	$C_2-H \cdots O$	14.02	$\sigma^*C-H \cdots LP(O)$	0.014
II	$C_6-H_{eq} \cdots O$	14.73	$\sigma^*C-H \cdots LP(O)$	0.015
	$C_2-H \cdots O$	16.37	$\sigma^*C-H \cdots LP(O)$	0.016
III	$C_6-H_{eq} \cdots O$	14.60	$\sigma^*C-H \cdots LP(O)$	0.015
IV	$C_3-H \cdots O$	10.80	$\sigma^*C-H \cdots LP(O)$	0.009
V	$C_5-H_{ax} \cdots O$	2.4	$\sigma^*C-H \cdots LP(O)$	0.005

[a] Dímeros numerados em acordo com a numeração de átomos apresentada na Figura III.1.

[b] Apenas as interacções com energia superior a 2.4 kJ mol^{-1} são apresentadas.

[c] LP= par electrónico não partilhado.

Os resultados obtidos pela análise NBO são particularmente úteis na identificação dos grupos doadores e aceptadores com maior preferência no estabelecimento das ligações $C-H \cdots O$. Neste caso, verifica-se que os cálculos prevêem as interacções $-C(6)-H_{eq} \cdots O$ e $=C(2)-H \cdots O$ como as mais fortes, sendo esta última a interacção mais estabilizante. Esta conclusão é também suportada pelas correspondentes ordens de ligação de *Wiberg*.

A redistribuição de cargas no processo de dimerização pode ser avaliada pelas variações que ocorrem nas cargas atômicas (dímero relativamente ao monómero) e pode ser visualizada na Figura III.3.

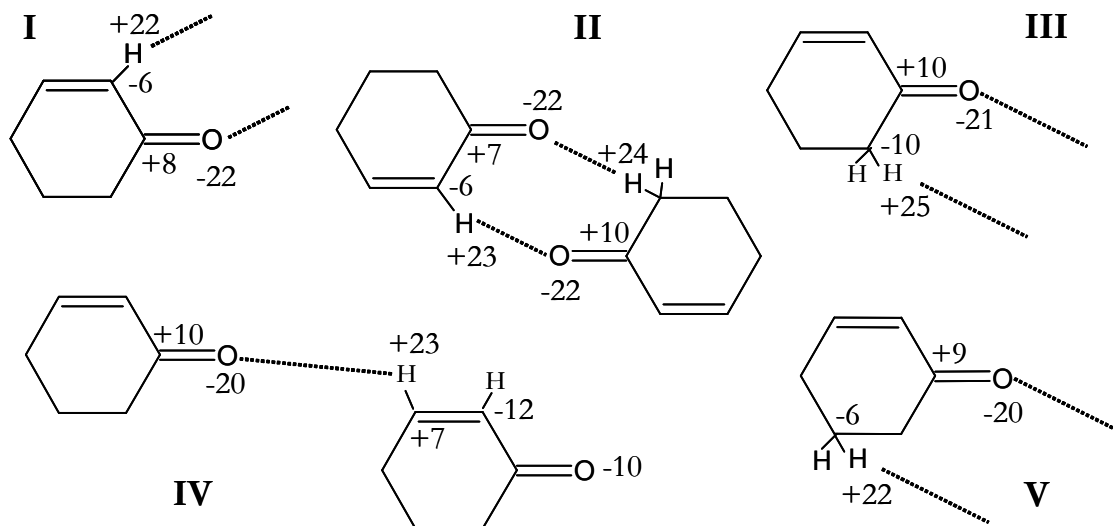


Figura III.3 – Variações de cargas atômicas verificadas durante a dimerização (em me) obtidas pela análise NBO. Apenas os valores superiores a 5 me são apresentados e representam ganhos ou perdas em relação aos monómeros correspondentes.

A Figura anterior evidencia as transferências de carga características do par electrónico não partilhado do átomo de oxigénio do grupo carbonilo (aceitador de protão) para a orbital anti-ligante σ^* do doador de protão C-H. No conjunto, em termos de transferência de carga ocorrida durante a dimerização, não se verifica uma distinção evidente entre doadores $C_{sp^2}-H$ e $C_{sp^3}-H$. A importância da conjugação π entre o grupo carbonilo e a dupla ligação é evidenciada na forma IV, para a qual uma significativa quantidade de carga é transferida para o grupo carbonilo livre.

III.2.2.2 – Espectroscopia vibracional

Dado que se pretendem analisar alterações nos modos vibracionais $\nu_{C=O}$ e ν_{C-H} que possam ser indicativas da presença de interacções intermoleculares $C-H\cdots O$, os resultados obtidos por espectroscopia vibracional serão discutidos nas regiões espectrais correspondentes a esses modos de elongação.

Na região de elongação do grupo carbonilo, $\nu_{C=O}$, compreendida entre 1630 e 1730 cm^{-1} e representada na Figura III.4, verifica-se a existência de um par de bandas, com máximos a aproximadamente 1672 e 1683 cm^{-1} , isto é, verifica-se (como já referido anteriormente) o desdobramento do modo de elongação do grupo carbonilo. No passado, este par de bandas foi atribuído a ressonância de Fermi⁸⁰. Contudo, dado que essa atribuição não é suportada pelas variações de intensidade observadas, quer nos estudos de diluição em diferentes solventes quer nos estudos de variação de temperatura, uma explicação mais razoável é assumir a existência de um equilíbrio de dimerização por ligações $C-H\cdots O$. Explicações alternativas para o desdobramento da banda $\nu_{C=O}$, tais como o equilíbrio ceto-enólico ou o acoplamento de Davydov⁸¹, foram estudadas. No entanto, nenhuma destas explicações era consistente com o comportamento observado na região do grupo carbonilo, pelo que foram excluídas.

A atribuição do desdobramento da banda $\nu_{C=O}$ à presença de interações intermoleculares $C-H\cdots O$ é suportada experimentalmente pela dependência temperatura-intensidade das duas bandas presentes na região do carbonilo. A Figura III.4 apresenta os resultados obtidos na região $\nu_{C=O}$ pelo estudo de variação de temperatura realizado com a cHx pura e obtido por espectroscopia de Raman. As temperaturas variaram desde -33 até 109°C (240-382K).

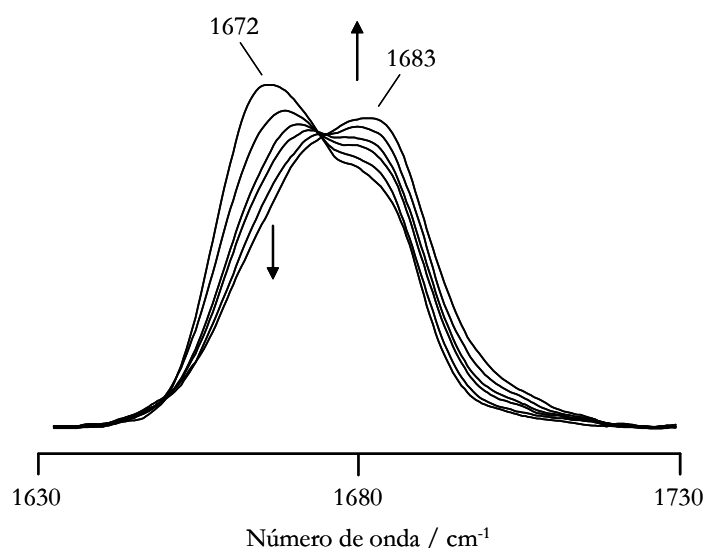


Figura III.4 – Espectros de FT-Raman, normalizados para uma área unitária, da ciclohexenona pura a diferentes temperaturas, na região de elongação do grupo carbonilo. Verifica-se a presença de um ponto pseudo-isosbético a aproximadamente 1679 cm^{-1} . O aumento de temperatura provoca diferentes alterações nas intensidades das bandas, estando essas alterações indicadas por setas.

Analisando a Figura anterior verifica-se que a razão de intensidades I_{1672}/I_{1683} diminui com o aumento da temperatura, verificando-se a inversão de intensidades a valores de frequência fixos, situação incompatível com a hipótese de ressonância de Fermi. Esta situação pode ser explicada pela presença de dímeros ligados por ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$. Assim sendo, o aumento de temperatura leva a uma diminuição da concentração de formas diméricas, e consequentemente a banda a 1672 cm^{-1} , atribuída a grupos carbonilo ligados, perde intensidade para a banda a 1683 cm^{-1} , atribuída a grupos carbonilo livres.

De maneira a verificar a presença de um ponto de intensidade independente da temperatura, designado por ponto pseudo-isobéstico^{82,83}, os espectros de Raman apresentados na Figura III.4 foram normalizados para uma área unitária (ver Secção VIII.1.7.1 do Capítulo VIII). Como referido anteriormente, a presença desse ponto indica a existência de um equilíbrio entre duas espécies. Pela análise da Figura III.4 verifica-se a presença de um ponto pseudo-isobéstico a aproximadamente 1679 cm^{-1} . Este facto constitui um suporte adicional para a atribuição das duas bandas observadas na região de elongação do carbonilo a duas espécies em equilíbrio, consideradas como formas livres e formas em ligação de hidrogénio 1:1.

Adicionalmente foram realizados estudos de diluição em CCl_4 (solvente inerte) e em CH_3OH (solvente doador de protão em ligações de hidrogénio) e verificou-se que a razão de intensidades I_{1672}/I_{1683} verificada na banda $\nu_{C=O}$ é também afectada por diluição. Com a diluição em CCl_4 é esperado que o par de bandas $\nu_{C=O}$ se desvie para maiores valores de frequência. A explicação para esta observação reside no facto do solvente CCl_4 ser bastante apolar, o que torna a ligação $C=O$ menos polarizada (Figura III.5), o que corresponde a um maior carácter duplo da ligação e consequentemente uma constante de força de ligação superior.

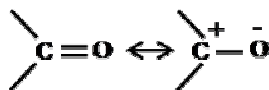


Figura III.5 – Polarização da ligação $C=O$.

Na Figura III.6 estão representados os espectros de Raman, na região de elongação do grupo carbonilo, de soluções de cHx em CCl_4 e em CH_3OH , com diferentes fracções molares (x). Para além dos desvios esperados devido à polaridade do solvente, a diluição em CCl_4 provoca um aumento de intensidade da banda a 1683 cm^{-1} e o desaparecimento progressivo da

banda centrada a 1672 cm^{-1} . O efeito oposto é observado com a diluição em metanol, solvente que é doador de próton em ligações de hidrogénio fortes. De facto, a diluição em metanol provoca um progressivo aumento de intensidade da banda a menores valores de frequência (1672 cm^{-1}) relativamente à de maiores valores de frequência (1683 cm^{-1}).

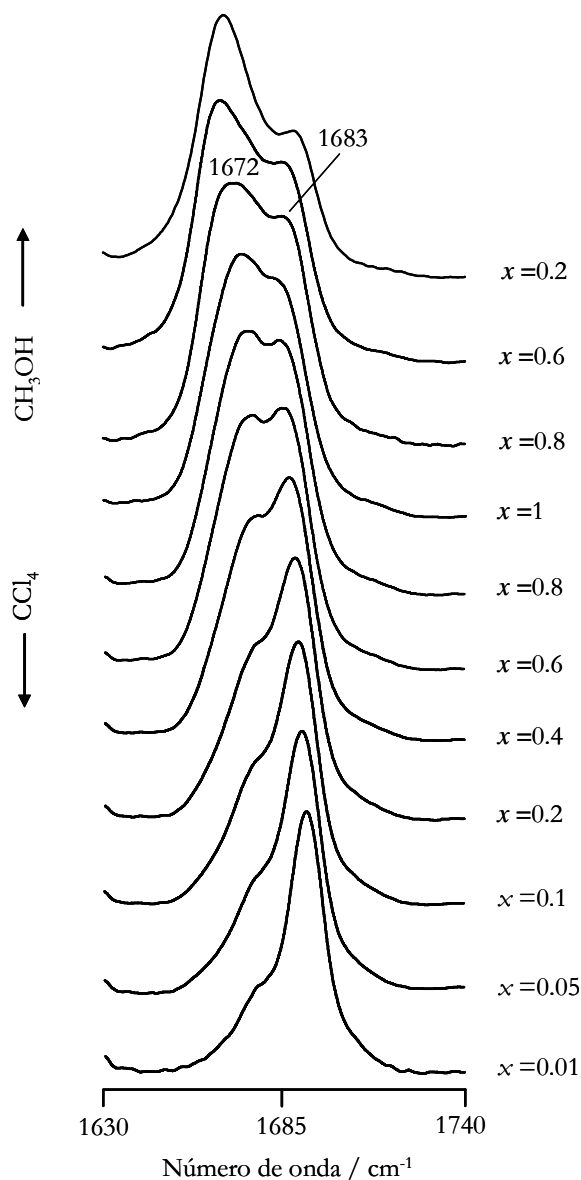
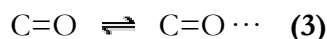


Figura III.6 – Espectros de FT-Raman, à temperatura ambiente e na zona de elongação do carbonilo, de soluções de ciclohexenona em CCl_4 e CH_3OH , com diferentes fracções molares (x).

Os efeitos verificados nos estudos de diluição estão de acordo com a atribuição do par de bandas $\nu_{\text{C=O}}$ a grupos carbonilo livres e ligados em ligações de hidrogénio. Este comportamento, verificado por espectroscopia de Raman, é também observado por espectroscopia de infravermelho.

O conjunto de resultados obtidos sustenta assim a atribuição do desdobramento da banda $\nu_{C=O}$ à presença de um equilíbrio de dimerização por ligações C-H...O.

O valor de entalpia (ΔH°) associado à dimerização por ligações de hidrogénio pode ser estimado, como referido na Secção II.3.3 do Capítulo II, a partir de estudos de variação de temperatura. No caso particular de ligações de hidrogénio C-H...O, pode-se assumir a existência, no líquido, de um equilíbrio entre os grupos carbonilo livres e em ligação de hidrogénio:



Esta simples aproximação proporciona boas estimativas do valor de entalpia de dimerização apenas quando a população de dímeros seja considerada baixa.

A representação gráfica de $\ln(I_{1672}/I_{1683})$, em que I_{1672} e I_{1683} representam, respectivamente, as intensidades de bandas integradas dos grupos carbonilo em ligação de hidrogénio (I_B) e livres (I_A) (obtidas por ajuste de bandas, ver Secção VIII.1.7.1 do Capítulo VIII), em função do inverso da temperatura (Figura III.7a), resulta numa linha curva. Esta situação implica que o modelo adoptado não seja adequado para o intervalo de temperaturas considerado. Pelo ajuste, a uma linha recta, dos pontos obtidos na Figura III.7a, obtém-se um valor de correlação baixo ($r^2=0.93$), e um valor de entalpia (ΔH°) de aproximadamente $-7.1 \pm 0.7 \text{ kJ mol}^{-1}$, que deverá ser considerado como limite inferior do valor real.

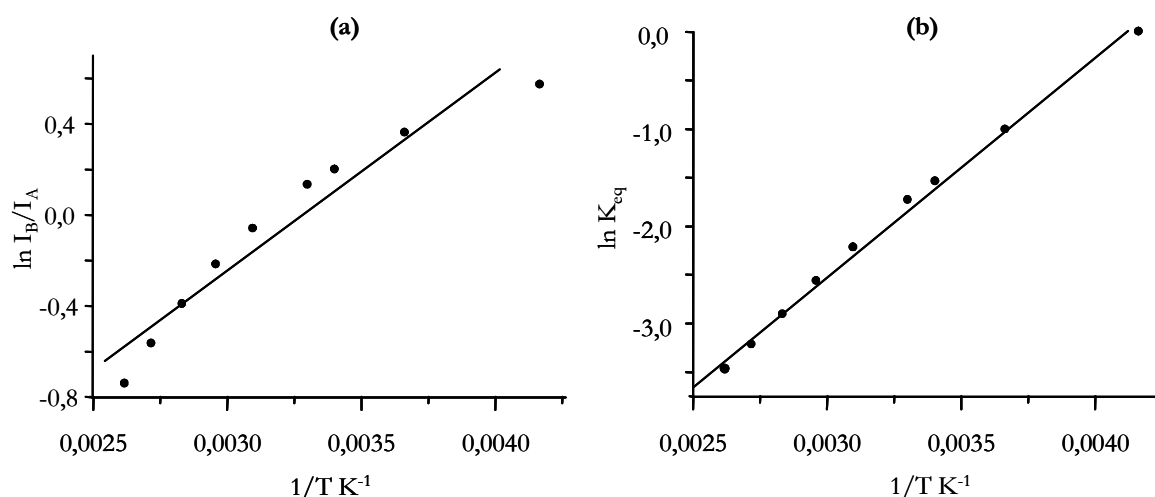
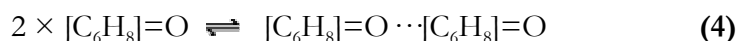


Figura III.7 – Representação de (a) $\ln I_B/I_A$ em função de $1/T$ e (b) $\ln K_{eq}$ em função de $1/T$.

Como referido anteriormente na Secção II.3.3 do Capítulo II, a constante de equilíbrio real para o processo de dimerização pode ser determinada em termos de concentração molar de dímeros e monómeros. De acordo com o método de *Sburvell* e col.^{82,83}, descrito anteriormente, é possível calcular o valor da razão α_B/α_A pelo declive da recta obtida por representação de I_B em função de I_A , para diferentes temperaturas. No caso particular da cHx, obteve-se $\alpha_B/\alpha_A = 2.7 \pm 0.2$.

Assumindo o equilíbrio entre monómeros e dímeros 1:1, em que a dimerização ocorre através de contactos $C-H \cdots O$ simples:



e, uma vez obtidos os valores da concentração molar de monómeros (C_M) e dímeros (C_D), de acordo com o procedimento descrito anteriormente na Secção II.3.3 do Capítulo II, é possível calcular o valor de K_{eq} através da relação:

$$K_{eq} = \frac{C_D}{C_M^2} \quad (5)$$

O valor de K_{eq} obtido a 25°C (298K), para a cHx líquida pura, foi de aproximadamente 0.18 ± 0.03 . Este valor está em concordância com a razão de intensidades I_B/I_A observada na diluição em CCl_4 (Figura III.6).

Calculados os valores de K_{eq} , é possível calcular os valores de entalpia (ΔH°) e de entropia (ΔS°) através da equação de *van't Hoff*. Pela representação de $\ln K_{eq}$ em função de $1/T$ (Figura III.7b) obtém-se uma linha recta ($r^2=0.99$), cujo declive e ordenada na origem correspondem a $\Delta H^\circ = -18.5 \pm 0.6 \text{ kJ mol}^{-1}$ e $\Delta S^\circ = -76 \pm 2 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, respectivamente.

O valor de ΔH° encontra-se bastante acima dos valores experimentais obtidos para sistemas envolvendo ligações de hidrogénio do tipo $C-H \cdots O$ ^{4,7,8,11,12,84}. De facto, a maioria dos valores de ΔH° obtidos para processos de dimerização por ligações $C-H \cdots O$ encontram-se no intervalo de -3 a -7 kJ mol^{-1} . No entanto, num trabalho recentemente publicado por *Wojcik* e col.¹⁶ foi obtido um valor experimental de $-35.1 \pm 0.04 \text{ kJ mol}^{-1}$ para um dímero envolvendo duas ligações de hidrogénio $=C-H \cdots O$ fortes. Nesse trabalho, assumiu-se que cada ligação $=C-H \cdots O$ contribuía com $-14.5 \pm 1 \text{ kJ mol}^{-1}$ para a entalpia total.

Relativamente ao valor de ΔS° , o número de valores obtidos para equilíbrios de dimerização é escasso. *Wojcik* e col.¹⁶ obtiveram o valor experimental de $\Delta S^\circ = -93.7 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

para uma dimerização estabelecida por dois contactos. Na dimerização de álcoois – envolvendo as clássicas ligações $O-H\cdots O$, *Durov*⁸⁵ obteve valores de ΔS° no intervalo de valores de -48 a -72 J K⁻¹mol⁻¹. Pela análise da dependência das intensidades de bandas de infravermelho ν_{O-H} com a temperatura, *Chen* e col.⁸⁶ obtiveram o valor de -116.6 ± 14 J K⁻¹mol⁻¹ para o sistema 2,2-dimetil-3-etil-3-pentanol.

Pela análise da região de elongação dos grupos $C-H$, ν_{C-H} , pode-se obter informação importante relativamente à estrutura dos dímeros estabelecidos por ligações $C-H\cdots O$. De facto, como referido anteriormente, é esperado que a presença de contactos $C-H\cdots O$ influencie a vibração do grupo $C-H$, promovendo assim a formação de uma nova banda atribuída ao modo $\nu_{C-H(\cdots O)}$, desviada do modo original¹⁸.

A Figura III.8 apresenta os espectros de infravermelho, na região ν_{C-H} compreendida entre 2750 e 3150 cm⁻¹, de soluções de cHx em CCl₄ com diferentes fracções molares (x).

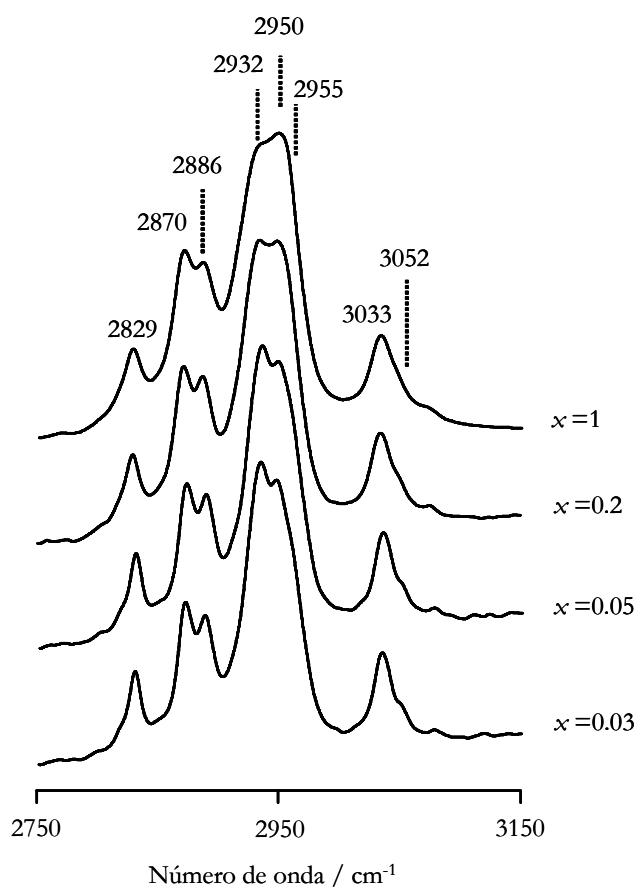


Figura III.8 – Espectros de FT-IR, na região dos modos de elongação dos grupos $C-H$, da ciclohexenona pura e de soluções em CCl₄, com diferentes fracções molares (x).

Pela análise da Figura III.8, verifica-se que os efeitos mais evidentes da diluição ocorrem no grupo de bandas existentes na região 2900-3000 cm^{-1} . O aumento de concentração leva a uma transferência de intensidade do lado a menores valores de frequência para o lado a maiores valores de frequência da banda total. Devido à forte sobreposição de bandas, não é possível identificar todos os componentes que se encontram sob a banda total. No entanto, pela comparação entre os perfis e os seus derivativos de infravermelho e Raman, é possível identificar pelo menos três componentes na região 2900-3000 cm^{-1} . A diferença de espectros revela que a transferência de intensidade maioritária, verificada durante o aumento da concentração, ocorre da banda a 2932 cm^{-1} para a asa a maiores valores de frequência a aproximadamente 2955 cm^{-1} .

De acordo com os cálculos *ab initio*, existem dois modos fundamentais que ocorrem na região 2900-3000 cm^{-1} . Esses modos são as elongações simétricas dos grupos C(5)-H₂ e C(6)-H₂, ν_{CH_2} . Para ambos os modos, está previsto um desvio para o azul de aproximadamente 6-9 cm^{-1} aquando da formação da ligação de hidrogénio. Deste modo, o aumento de intensidade verificado na região a 2955 cm^{-1} é atribuído à presença de uma banda correspondente ao grupo C-H em ligação de hidrogénio, $\nu_{C-H(\cdots O)}$, que é desviado para o azul em relação ao correspondente modo ν_{CH_2} livre. Esta dependência das intensidades da banda ν_{CH_2} com a concentração indica que os grupos C-H metileno contribuem significativamente para a formação de dímeros estabelecidos por ligações C-H \cdots O na cHx líquida.

A sensibilidade dos modos metileno na região 2900-3000 cm^{-1} contrasta com o comportamento quase independente da concentração do par de bandas situado a 3033-3052 cm^{-1} . Este par de bandas é atribuído, respectivamente, aos modos de elongação ν_{C-H} simétrico e assimétrico do fragmento vinílico -CH=CH-. De facto, além da diminuição da largura de bandas já esperada, que proporciona uma melhor resolução do duplete a elevada diluição, verifica-se, na região acima dos 3000 cm^{-1} , que não existem diferenças nos espectros da amostra pura e das várias diluições. Esta é uma situação notável, uma vez que é esperado que os doadores =CH desempenhem um papel importante nas ligações de hidrogénio C-H \cdots O na cHx líquida. O elevado valor de entalpia de dimerização obtido apenas pode ser justificado pela presença de ligações de hidrogénio C-H \cdots O fortes e todas as comparações estabelecidas entre doadores $C_{sp^2}-H$ e $C_{sp^3}-H$, incluindo os resultados dos cálculos *ab initio*, identificam os grupos $C_{sp^2}-H$ como os doadores mais fortes.

A possibilidade de ocorrerem ligações de hidrogénio $C-H \cdots O$ na cHx líquida envolvendo apenas grupos doadores $C_{sp^3}-H$, e portanto sem a participação de grupos $C_{sp^2}-H$ como doadores, não é considerada uma hipótese razoável. Deste modo, a quase insensibilidade dos modos ν_{C-H} associados ao fragmento vinílico $-CH=CH-$ poderá ser explicada de duas maneiras:

1) A insensibilidade é apenas aparente e o contacto $C-H \cdots O$ provoca um elevado desvio, superior a 100 cm^{-1} , do modo ν_{C-H} para o vermelho. As variações de intensidade observadas na região $2900\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ podem ser então atribuídas ao desvio da banda para menores valores de frequência. Embora esta explicação não possa ser desconsiderada, a observação de um desvio para o vermelho dos modos ν_{C-H} tão elevado, não é suportada por nenhuma outra fonte de resultados, como por exemplo, os cálculos *ab initio* ou resultados experimentais obtidos com moléculas semelhantes.

2) Os grupos doadores $C_{sp^2}-H$ na cHx não evidenciam o seu envolvimento em ligações de hidrogénio $C-H \cdots O$ através de desvios notórios nos valores de frequência ou variações de intensidade nos modos ν_{C-H} . O fraco alargamento de bandas observado com o aumento de concentração é a única evidência da presença da interacção intermolecular. Este comportamento não é novo, tendo já sido observado no grupo $C_{sp^3}-H$ do clorofórmio^{69,87} e surge como a explicação mais razoável. É, no entanto, de mencionar que para os modos $\nu_{C(2)-H}$ e $\nu_{C(3)-H}$ estão previstos, pelos cálculos *ab initio*, ligeiros desvios aquando da formação de ligação de hidrogénio. O máximo de desvio calculado é 4 cm^{-1} para menores valores de frequência (desvio para o vermelho).

III.2.3 – Conclusões

O presente estudo providencia nova informação experimental relacionada com a ocorrência de ligações de hidrogénio $C-H \cdots O$ na cHx líquida. A análise da região do modo de elongação do grupo carbonilo, $\nu_{C=O}$, pode ser interpretada em termos de um equilíbrio monómero \rightleftharpoons dímero.

A presença de um ponto pseudo-isobéstico a aproximadamente 1679 cm^{-1} sustenta a atribuição das duas bandas observadas na região $\nu_{C=O}$ a duas espécies em equilíbrio, consideradas como formas livres (monómeros) e associadas na relação 1:1 (dímeros). Os parâmetros termodinâmicos do processo de dimerização, entalpia (ΔH°) e entropia (ΔS°),

foram determinados utilizando-se a equação de *van't Hoff*. Enquanto que o valor obtido para ΔS° , $-76 \pm 2 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, se encontra dentro do intervalo de valores experimentais obtidos para equilíbrios de dimerização similares, o valor obtido para ΔH° , $-18.5 \pm 0.6 \text{ kJ mol}^{-1}$ é inesperadamente elevado. No entanto, verifica-se uma concordância qualitativa com um trabalho recentemente publicado por *Wojcik* e col.¹⁶, no qual foi atribuído o valor experimental de $-14.5 \pm 1 \text{ kJ mol}^{-1}$ a uma ligação de hidrogénio $C_{sp^2} - H \cdots O$.

De acordo com os cálculos *ab initio* realizados, as ligações de hidrogénio mais estabilizantes na cHx são as interacções $C(6) - H \cdots O$ e $C(2) - H \cdots O$. A análise da região dos modos de elongação dos grupos $C-H$, ν_{C-H} , indica que os grupos metileno $C_{sp^3} - H$ contribuem significativamente na formação de dímeros estabelecidos por ligações $C - H \cdots O$ na cHx líquida. O grupo de bandas atribuídas aos modos ν_{CH_2} do C(6) e C(5) apresentam, embora de uma maneira subtil, dependência da intensidade de bandas com a temperatura, facto esse que se pode relacionar com a presença de uma banda $C - H \cdots O$ desviada para o azul.

O resultado mais surpreendente é a ausência de dependência das intensidades das bandas atribuídas aos modos de elongação dos grupos $C-H$ mais acídicos, $=C(2) - H$ e $=C(3) - H$, com a concentração ou temperatura. Esta situação sugere que os grupos doadores $C_{sp^2} - H$ na cHx não evidenciam o seu envolvimento em ligações de hidrogénio $C - H \cdots O$ através de desvios notórios nos valores de frequência ou variações de intensidade nos modos ν_{C-H} , comportamento já observado com o grupo $C_{sp^3} - H$ do clorofórmio^{69,87}. O grupo $C-H$ do clorofórmio e os grupos $=CH$ da cHx partilham a mesma propriedade: são ambos mais acídicos que os grupos $C-H$ alquílicos (para os quais os modos ν_{C-H} são tipicamente desviados para o azul aquando da formação de ligações de hidrogénio) e menos acídicos que os grupos $\equiv CH$ (que apresentam um comportamento, em termos de alteração de intensidade e desvio dos valores de frequência, paralelo aos grupos $O-H$). Este carácter intermediário dos grupos doadores $C_{sp^2} - H$ foi também previsto a partir de estudos *ab initio* comparativos^{74,75}.

No presente trabalho, evidencia-se assim o primeiro exemplo conhecido de uma ligação de hidrogénio $C - H \cdots O$ forte sem evidentes variações espectrais no correspondente modo ν_{C-H} .

III.3 – Evidência de ligações C-H...O nos modos $\nu\text{C=O}$ e $\nu\text{C-H}$ da dihidrocurmarina

III.3.1 – Objectivos

Neste estudo pretende-se concretizar dois objectivos:

1) Estabelecer a atribuição completa do espectro vibracional da dihidrocurmarina líquida (DHCOU), tendo como termo de comparação moléculas similares tais como a α -pirona (α -PIR) e a curmarina (COU). Este constitui o primeiro passo para a interpretação das alterações verificadas no espectro vibracional.

2) Evidenciar a ocorrência de ligações de hidrogénio do tipo $\text{C-H}\cdots\text{O}$ na DHCOU líquida pelo estudo combinado de cálculos *ab initio* e espectroscopia vibracional nas suas várias vertentes: Raman, infravermelho e difusão inelástica de neutrões.

O sistema DHCOU, representada na Figura III.9, apresenta um anel aromático e um anel heterocíclico de 6 membros contendo um grupo carbonilo e um oxigénio tipo éter, pertencendo deste modo à classe das lactonas, sistemas biológicos de elevado interesse.

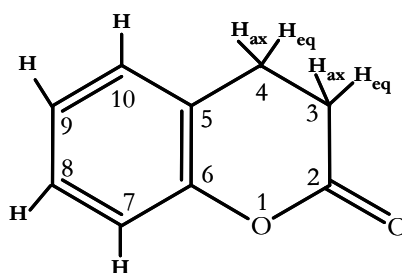


Figura III.9 – Representação esquemática da estrutura molecular da dihidrocurmarina. Adicionalmente é incluída a numeração dos átomos utilizada ao longo do presente estudo. As abreviaturas *ax* e *eq* são utilizadas para estabelecer a distinção entre os hidrogénios ligados ao C(3) e ao C(4), um em posição axial (*ax*) e outro em posição equatorial (*eq*).

As lactonas encontram-se largamente distribuídas na natureza e desempenham importantes funções nos organismos. Por exemplo, as lactonas N-Acyl-L-homo-serina são importantes moléculas intercelulares sinalizadoras na monitorização da sua densidade populacional em determinados controlos de expressão genética⁸⁸. A lactona factor-A (2-isocapriloyl-3-R-hidroximetil- γ -butirolactona) e seus análogos actuam como auto-reguladores na diferenciação morfológica e no metabolismo secundário da *Streptomyces*⁸⁹.

Neste sentido, a atribuição vibracional de compostos pertencentes à classe das lactonas, relativamente escassa na literatura existente, é de considerável interesse.

Adicionalmente, é conveniente estabelecer primeiramente uma atribuição completa dos espectros vibracionais para que estes possam ser interpretados correctamente em termos estruturais.

O sistema DHCOU pode apresentar interações $C-H\cdots O$, uma vez que apresenta potenciais grupos doadores de hidrogénio, grupos $C-H$, de diferente natureza e grupo aceitador de hidrogénio, grupo $C=O$, que podem funcionar como sonda vibracional. Deste modo, determinadas alterações no espectro vibracional poderão ser interpretadas como resultado da presença deste tipo de interacção. Neste contexto, o estudo de ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$ na dihidrocinarina líquida poderá providenciar informações importantes acerca do possível papel que estas ligações desempenham em sistemas biológicos que contenham como unidade estrutural integrante o anel da lactona.

III.3.2 – Resultados e discussão

III.3.2.1 – Atribuição do espectro vibracional

A atribuição dos modos vibracionais da DHCOU é relativamente dificultada pelo elevado grau de conjugação entre os modos vibracionais atribuídos às diferentes unidades estruturais, anel aromático e anel heterocíclico. De maneira a ultrapassar esta limitação, realizou-se primeiramente a atribuição vibracional do sistema α -PIR (Figura III.10). A escolha deste sistema baseou-se no facto da α -PIR ser constituída por uma unidade estrutural semelhante a uma das unidades da DHCOU, isto é, contém um estrutura semelhante ao anel heterocíclico da DHCOU. Adicionalmente, a atribuição do seu espectro vibracional encontra-se já descrito na literatura⁹⁰.

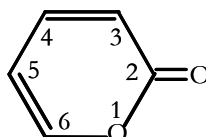


Figura III.10 – Representação esquemática da estrutura molecular da α -pirona.

Para poder estabelecer a atribuição vibracional quer deste sistema quer dos restantes (COU e DHCOU), procedeu-se inicialmente à optimização completa, da estrutura molecular do monómero, ao nível padrão B3LYP/6-31G*. As frequências vibracionais com respectivas intensidades foram seguidamente calculadas ao mesmo nível de cálculo, não se verificando a

existência de valores imaginários, indicando tratar-se de mínimos reais. Para efeitos de comparação com os valores experimentais, os valores de frequência calculados foram multiplicados por um factor de 0.9614⁹¹.

Na Tabela III.3 é apresentada a atribuição completa dos espectros de Raman e de infravermelho da α -PIR, estabelecida com base nos valores de frequência calculados para os modos normais do monómero. A intensidade das bandas é descrita pela seguinte convenção: vs – muito forte, s – forte, m – média, w – fraca, vw – muito fraca e sh – ombro.

Tabela III.3 – Atribuição dos espectros vibracionais de FT-Raman e de FT-IR da α -pirona.

Calc. [a]	FT-Raman	FT-IR	Descrição aproximada ^[b]
152	172 (w)	ζ heteroc
366	353 (m)	352 (m)	ζ heteroc
458	458 (m)	458 (m)	β C=O
501	501 (m)	ζ heteroc
526	553 (m)	553 (m)	α heteroc
590	606 (m)	606 (m)	α heteroc
702	724 (vw)	723 (m)	γ C=O
732 + 755	787 (m)	783 (s)	ν C ₍₂₎ -C ₍₃₎ + γ C-H
821	845 (m)	γ C-H
905	942 (vw)	946 (m)	γ C-H
916	975 (w)	975 (m)	α heteroc
963	1002 (w)	1004 (w)	ν C ₍₄₎ -C ₍₅₎
972	1069 (m)	1069 (s)	γ C-H
1064	1085 (m)	1083 (s)	β C-H
1087	1122 (m)	1123 (m)	ν C ₍₂₎ -O
1158	1181 (s)	1180 (m)	β C-H

1246	1247 (m)	1246 (s)	$\nu_{C(6)-O}$
1359	1373 (m)	1373 (m)	β_{C-H}
1424	1426 (m)	1427 (m)	β_{C-H}
1536	1541 (vs)	1543 (m)	$\nu_{C(3)=C(4)}$
1628	1624 (m)	1625 (m)	$\nu_{C(5)=C(6)}$
1784	1738 (m)	1735 (vs)	$\nu_{C=O}$
3075	3031 (w)	3031 (m)	ν_{C-H}
3102	3053 (m)	3055 (w)	ν_{C-H}
3115	3082 (w)	3080 (w)	ν_{C-H}
3122	3108 (s)	3105 (s)	ν_{C-H}

[a] Valores calculados para o monómero ao nível B3LYP (factor de correcção=0.9614)

[b] ν = elongação; β = deformação no plano; γ = deformação fora do plano;

α = deformação do anel no plano; ζ = deformação do anel fora do plano;

heteroc = anel heterocíclico

Depois de realizada a atribuição dos modos vibracionais da α -PIR, procedeu-se à atribuição dos modos vibracionais da COU. A estrutura molecular da COU, representada na Figura III.11, é praticamente a mesma da DHCOU, à excepção da presença de uma ligação dupla entre os átomos de carbono C(3) e C(4).

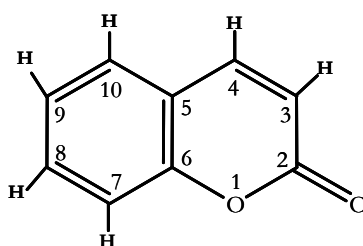


Figura III.11 – Representação esquemática da estrutura molecular da cumarina.

Esta particularidade torna a atribuição dos modos vibracionais da COU relativamente mais fácil que a atribuição da DHCOU, uma vez que não se tem de considerar os modos associados aos grupos $C(3)H_2$ e $C(4)H_2$.

Os vários modos associados aos grupos CH_2 , no total de doze modos, seis por cada $C(3,4)H_2$, além de serem em número elevado, nem sempre são fáceis de se identificar dada a

forte interdependência com outros modos. Ao ser estabelecida primeiramente a atribuição da COU, os modos vibracionais associados aos grupos C(3)H₂ e C(4)H₂ da DHCOU estabelecem-se assim por diferença e os modos vibracionais comuns aos dois sistemas estabelecem-se por semelhança.

A atribuição completa dos espectros de Raman e de infravermelho da COU, estabelecida com base nos valores de frequência calculados para os modos normais do monômero, está estabelecida na Tabela III.4.

Tabela III.4 – Atribuição dos espectros vibracionais de FT-Raman e de FT-IR da cumarina.

Calc. ^[a]	FT-Raman	FT-IR	Descrição aproximada ^[b]
162	192 (w)	ζ heteroc
264	273 (vw)	ζ heteroc
306	307 (vw)	βC=O
378	377 (m)	ζ heteroc
451	450 (m)	454 (m)	α heteroc
465	461 (sh)	ζ arom
494	493 (m)	493 (w)	α heteroc
514	528 (m)	526 (m)	α arom
533	544 (sh)	ζ arom
597	605 (m)	α arom
664	689 (vw)	687 (m)	γC=O
713	732 (m)	729 (sh)	α heteroc
729	755 (vs)	ζ arom
741 + 746	764 (m)	764 (sh)	α arom + γ(C-H) arom
810	827 (vs)	γ(C-H) heteroc
849 + 858	868 (m)	γ(C-H) arom + νC ₍₂₎ -C ₍₃₎
897	894 (w)	893 (m)	ν(C-C) arom
914	933 (w)	932 (s)	γ(C-H) arom
950	955 (w)	954 (m)	γ(C-H) arom

971	995 (w)	994 (m)	γ (C-H) heteroc
1017	1031 (m)	1029 (m)	β (C-H) arom
1069	1103 (w)	1104 (s)	$\nu_{C(2)-O}$
1104	1124 (m)	1122 (s)	β (C-H) arom
1142	1158 (m)	1155 (m)	β (C-H) arom
1157	1178 (s)	1177 (s)	β (C-H) heteroc
1211	1231 (m)	1229 (m)	$\nu_{C(4)-C(5)}$
1242	1260 (w)	1259 (s)	$\nu_{C(6)-O}$
1259	1282 (w)	1279 (m)	β (C-H) arom
1327	1325 (m)	1325 (sh)	ν (C-C) arom
1385	1402 (w)	1400 (m)	β (C-H) heteroc
1439	1455 (m)	1453 (m)	ν (C-C) arom
1476	1488 (m)	1487 (m)	ν (C-C) arom
1553	1565 (vs)	1562 (m)	ν (C-C) arom
1601	1603 (s)	1603 (m)	ν (C-C) arom
1618	1619 (m)	1619 (m)	$\nu_{C(3)=C(4)}$
1773	1707 (m)	1706 (vs)	$\nu_{C=O}$
3065	3059 (sh)	3057 (m)	$\nu_{as}(C-H)$ heteroc
3067	3068 (m)	3068 (sh)	$\nu_{as}(C-H)$ arom
3076	3076 (sh)	3075 (sh)	$\nu_{as}(C-H)$ arom
3092	3082 (sh)	$\nu_{as}(C-H)$ arom
3102 + 3116	3115 (m)	$\nu_s(C-H)$ arom + $\nu_s(C-H)$ heteroc

[a] Valores calculados para o monómero ao nível B3LYP (factor de correcção=0.9614)

[b] ν = elongação; β = deformação no plano; γ = deformação fora do plano;

α = deformação do anel no plano; ζ = deformação do anel fora do plano;

arom = anel aromático; heteroc = anel heterocíclico

Os espectros de Raman e de infravermelho da DHCOU líquida, compreendidos nas regiões 100-1900 cm^{-1} e 2800-3200 cm^{-1} e obtidos à temperatura ambiente, estão representados na Figura III.12 e a correspondente atribuição de bandas está estabelecida na Tabela III.5.

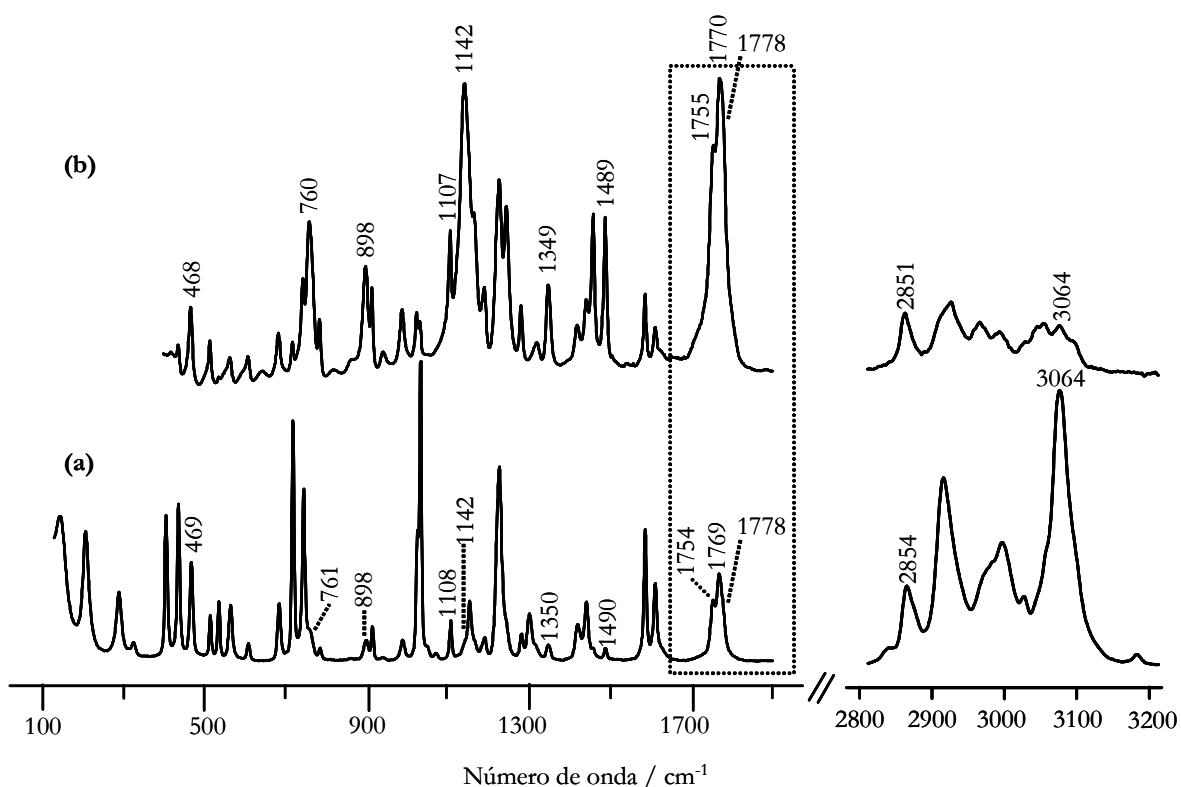


Figura III.12 – Espectros de FT-Raman (a) e FT-IR (b) da dihidrocumarina líquida, compreendidos nas regiões 100-1900 cm^{-1} e 2800-3200 cm^{-1} e obtidos à temperatura ambiente.

Tabela III.5 – Atribuição dos espectros vibracionais de FT-Raman e de FT-IR da dihidrocumarina.

Calc. [a]	FT-Raman	FT-IR	Descrição aproximada[b]
135	145 (m)	ζ heteroc
203	208 (m)	ζ heteroc
288	290 (m)	ζ heteroc
325	326 (w)	$\beta\text{C}=\text{O}$
409	406 (m)	406 (w)	α heteroc
437	437 (m)	438 (m)	α heteroc
476	469 (m)	468 (m)	ζ arom
497	515 (m)	514 (m)	α arom
525	536 (m)	536 (w)	ζ arom

553	565 (m)	565 (m)	$\gamma\text{C=O}$
591	609 (w)	609 (m)	α arom
666	685 (m)	684 (m)	α heteroc
703	719 (s)	718 (w)	ζ arom
726	745 (m)	743 (m)	α arom
744	761 (sh)	760 (s)	$\gamma(\text{C-H})$ arom
766	786 (w)	785 (m)	$\rho\text{C}_{(3)}\text{H}_2$
844	862 (w)	$\gamma(\text{C-H})$ arom
882 + 887	898 (w)	898 (s)	$\nu\text{C}_{(2)}\text{-C}_{(3)} + \nu(\text{C-C})$ arom
909	915 (w)	914 (m)	$\gamma(\text{C-H})$ arom
943	940 (w)	$\gamma(\text{C-H})$ arom
963	989 (w)	989 (m)	$\nu\text{C}_{(3)}\text{-C}_{(4)}$
1013	1026 (sh)	1024 (m)	$\rho\text{C}_{(4)}\text{H}_2$
1024	1034 (vs)	1033 (sh)	$\beta(\text{C-H})$ arom
1092	1108 (m)	1107 (m)	$\beta(\text{C-H})$ arom
1125	1142 (sh)	1142 (s)	$\nu\text{C}(2)\text{-O}$
1143	1154 (m)	$\beta(\text{C-H})$ arom
1150	1167 (sh)	1167 (w)	$\phi\text{C}_{(4)}\text{H}_2$
1171	1191 (w)	1190 (m)	$\nu\text{C}_{(4)}\text{-C}_{(5)}$
1216	1228 (m)	1228 (s)	$\nu\text{C}_{(6)}\text{-O}$
1223	1245 (sh)	1245 (m)	$\phi\text{C}_{(3)}\text{H}_2$
1264	1282 (w)	1282 (m)	$\beta(\text{C-H})$ arom
1300	1303 (m)	$\nu(\text{C-C})$ arom
1310	1317 (sh)	1320 (m)	$\omega\text{C}_{(3)}\text{H}_2$
1336	1350 (w)	1349 (m)	$\omega\text{C}_{(4)}\text{H}_2$
1437	1420 (w)	1420 (m)	$\eta\text{C}_{(3)}\text{H}_2$
1445	1443 (m)	1442 (m)	$\nu(\text{C-C})$ arom
1457	1460 (sh)	1460 (s)	$\eta\text{C}_{(4)}\text{H}_2$

1479	1490 (w)	1489 (s)	$\nu(C-C)$ arom
1582	1588 (m)	1588 (m)	$\nu(C-C)$ arom
1605	1612 (m)	1612 (m)	$\nu(C-C)$ arom
1800	1769 (m)	1770 (m)	$\nu C=O$
2912	2854 (m)	2851 (m)	$\nu_{sC(4)}-H_2$
2932	2905 (m)	2910 (m)	$\nu_{sC(3)}-H_2$
2977	2985 (m)	2983 (w)	$\nu_{asC(4)}-H_2$
3022	3015 (w)	3016 (sh)	$\nu_{asC(3)}-H_2$
3059	3044 (sh)	3043 (m)	$\nu_{as}(C-H)$ arom
3074 + 3088 + 3100	3064 (s)	3064 (w)	2 $\nu_{as}(C-H)$ arom + $\nu_s(C-H)$ arom

[a] Valores calculados para o monómero ao nível B3LYP (factor de correcção=0.9614)

[b] ν = elongação; β = deformação no plano; γ = deformação fora do plano;

α = deformação do anel no plano; ζ = deformação do anel fora do plano;

η = movimento de tesoura dos CH_2 ; ω = movimento de acenar dos CH_2 ; ϕ = movimento de torção dos CH_2 ;

ρ = movimento de balançar dos CH_2 ;

arom = anel aromático; heteroc = anel heterocíclico

Apesar de se estar a comparar situações diferentes, isto é, moléculas isoladas com moléculas em fase condensada, verifica-se, em todos os sistemas (α -PIR, COU e DHCOU), uma boa concordância, dentro de certas limitações, entre os valores calculados teoricamente para o monómero e os obtidos experimentalmente. Dado que o único tipo de ligações de hidrogénio que podem ocorrer nos sistemas em estudo são ligações do tipo $C-H \cdots O$, consideradas como ligações de hidrogénio fracas, as alterações que a presença desta ligação provoca no espectro restringem-se apenas a certos modos vibracionais dos grupos envolvidos directamente na interacção, sendo exemplo o desdobramento verificado no grupo carbonilo da DHCOU (zona com destaque na Figura III.12). Deste modo, o espectro simulado para o monómero reproduz satisfatoriamente o espectro do sistema, com excepção dos modos de elongação do grupo carbonilo e dos grupos $C-H$ quando estes estão envolvidos em ligações de hidrogénio do tipo $C-H \cdots O$. Esta é, no entanto, uma situação que não se verifica aquando da presença de ligações de hidrogénio fortes como, por exemplo, as $N-H \cdots N$ ou $O-H \cdots O$, uma vez que os efeitos que a sua presença provoca no espectro vibracional verificam-se não só nos grupos envolvidos na ligação mas estendem-se também aos grupos vizinhos. Nesta situação, o espectro obtido experimentalmente deverá ser comparado apenas com os espectros simulados teoricamente para dímeros, como será discutido no Capítulo IV.

III.3.2.2 – Estudo combinado de espectroscopia vibracional e cálculos *ab initio*

Os espectros vibracionais da DHCOU foram analisados em detalhe nas regiões dos modos vibracionais $\nu_{C=O}$ e ν_{C-H} , regiões espectrais nas quais é esperado que ocorram alterações indicativas da presença de interações intermoleculares $C-H \cdots O$.

Na Figura III.13, encontram-se representados os espectros de Raman (a cheio) e de infravermelho (a tracejado) da DHCOU pura no estado líquido e à temperatura ambiente, na região $\nu_{C=O}$ compreendida entre 1680-1840 cm^{-1} .

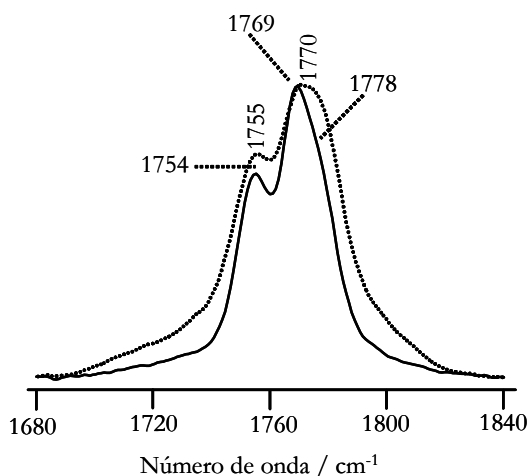


Figura III.13 – Espectros de FT-Raman (a cheio) e de FT-IR (a tracejado) da dihidrocurmarina líquida, na região $\nu_{C=O}$ (1680-1840 cm^{-1}) e obtidos à temperatura ambiente.

Pela análise da Figura III.13 verifica-se a existência na zona do carbonilo de uma banda constituída por três componentes, dois dos quais claramente separados e com máximos a 1754, 1769 cm^{-1} no espectro de Raman e 1755, 1770 cm^{-1} no espectro de infravermelho.

A existência adicional de um componente a aproximadamente 1778 cm^{-1} , observado no espectro de Raman e de infravermelho, torna a análise da banda de elongação do grupo carbonilo bastante complexa. Uma explicação plausível consiste em assumir que os três componentes observados na banda $\nu_{C=O}$ têm como origem um equilíbrio monómero/dímero estabelecido por ligações de hidrogénio do tipo $C-H \cdots O$ (que provoca um desdobramento) e ainda a existência de um sobretom (que provoca o aparecimento do terceiro componente) em ressonância de Fermi com um dos componentes anteriores. Este sobretom é possível dada a existência de modos fundamentais a aproximadamente 898 cm^{-1} atribuídos a $\nu_{C(2)-C(3)}$ em combinação com $\nu(C-C)_{\text{arom}}$.

Como referido anteriormente, uma das hipóteses que pode justificar o desdobramento observado no grupo carbonilo é o equilíbrio ceto-enólico, através da ocorrência de uma ligação $C=O\cdots H-O$ entre o grupo OH do enol e o $C=O$ da cetona. No entanto, verificou-se por espectroscopia de RMN de protão a ausência de grupos hidroxilo indicadores da presença de formas enólicas na DHCOU. Adicionalmente, pela comparação dos valores de energia obtidos por cálculos *ab initio* para o monómero na forma ceto e para o monómero na forma enólica, verificou-se que a elevada diferença energética existente entre eles ($105.8 \text{ kJ mol}^{-1}$) não é compatível com a presença de um equilíbrio ceto-enólico, pelo que essa hipótese foi excluída.

A ocorrência de um equilíbrio de dimerização por ligações $C-H\cdots O$ é considerada, pelas variações de intensidades observadas em estudos de diluição e estudos de variação de temperatura e que serão discutidas posteriormente, como a explicação mais razoável. No entanto, é necessário determinar quais os componentes observados na banda $\nu_{C=O}$ que têm como origem os grupos carbonilo livres e os grupos carbonilo em ligação de hidrogénio $C-H\cdots O$ e quais os que estão em ressonância de Fermi.

A primeira abordagem ao problema foi estabelecida pela análise dos espectros de polarização de Raman, I_{VV} e I_{VH} , representados na Figura III.14.

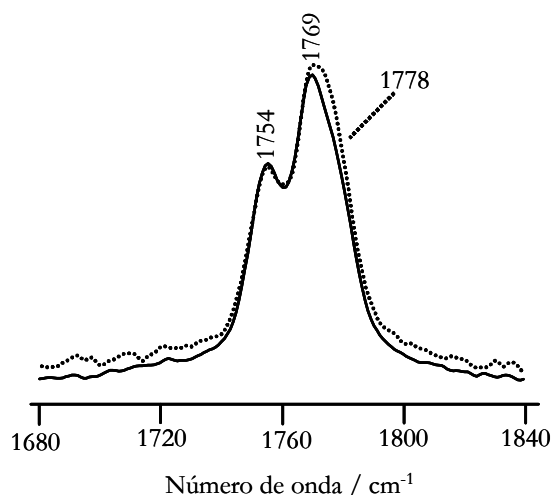


Figura III.14 – Espectros de polarização de FT-Raman I_{VV} (a cheio) e I_{VH} (a tracejado) da dihidrocoumarina líquida, na região $\nu_{C=O}$ ($1680\text{-}1840 \text{ cm}^{-1}$) e obtidos à temperatura ambiente.

Pela análise da Figura III.14 verifica-se que nos espectros de I_{VV} e I_{VH} ocorrem alterações, embora subtis, das intensidades relativas dos componentes observados a maiores valores de frequência, enquanto que para o componente a menores valores não se verifica

alteração. Esta observação sugere que os componentes a maiores valores de frequência, 1769/1778 cm^{-1} são de diferente natureza, situação que não é compatível com ressonância de Fermi. Por sua vez, o componente a 1754 cm^{-1} poderá estar em ressonância de Fermi com o componente a 1769 cm^{-1} ou com o componente a 1778 cm^{-1} .

De maneira a poder confirmar a ausência de ressonância de Fermi entre o par 1769/1778 cm^{-1} bem como estabelecer o par entre o qual se estabelece ressonância de Fermi, determinou-se, por estudos de variação de temperatura (representados na Figura III.15) e de acordo com a equação (1) e (2) da Secção III.1.2, os coeficientes de acoplamento W para os diferentes pares 1769/1778 cm^{-1} , 1754/1778 cm^{-1} e 1754/1769 cm^{-1} . Numa situação de ressonância de Fermi, W deverá ser constante para o intervalo de temperaturas considerado.

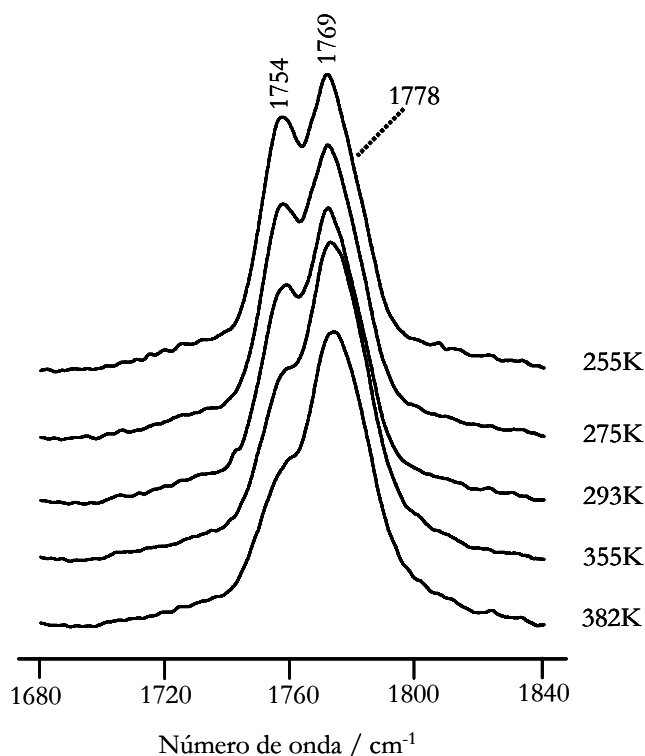


Figura III.15 – Espectros de FT-Raman da dihidrocoumarina pura obtidos a diferentes temperaturas na região $\nu_{C=O}$ (1680-1840 cm^{-1}).

Pela análise da Figura anterior e pelo cálculo da razão de intensidades r para o par 1769/1778 cm^{-1} , verificou-se que a razão 1769/1778 cm^{-1} é bastante dependente da temperatura. Assim, no intervalo de temperaturas considerado, r diminui de 3.1 para 1.0 com o aumento de temperatura, verificando-se também uma dependência quer dos valores de frequência “não perturbados” quer do valor de W com a temperatura (Figura III.16).

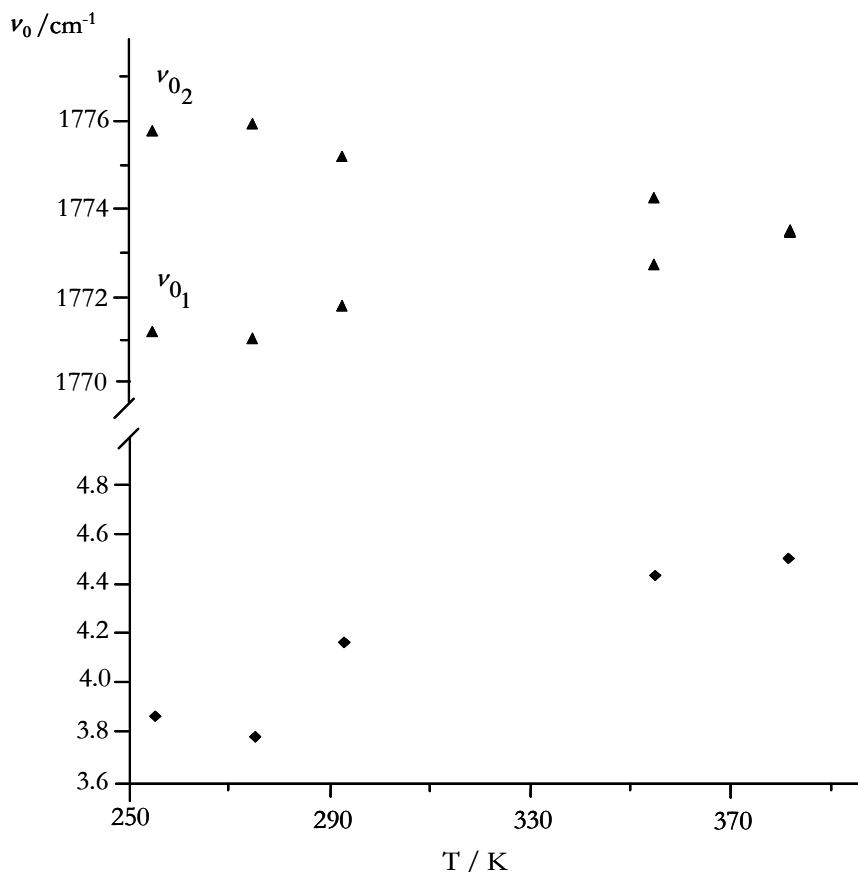


Figura III.16 – Dependência do coeficiente de acoplamento W (base) e dos valores de frequência “não perturbados”, ν_{0_1} e ν_{0_2} (topo), com a temperatura, calculados para o par 1769/1778 cm⁻¹.

Assim sendo, o conjunto de resultados obtidos demonstra que o par 1769/1778 cm⁻¹ não está em ressonância de Fermi. Por sua vez, calculados os valores da razão de intensidades r para os diferentes pares 1754/1778 cm⁻¹ e 1754/1769 cm⁻¹, verificou-se que o componente a 1754 cm⁻¹ está em ressonância de Fermi com o componente a 1769 cm⁻¹. De facto, para o par 1754/1778 cm⁻¹ verificou-se, à temperatura de 355K uma inversão de intensidades relativas, situação que não é compatível com ressonância de Fermi. Deste modo, as alterações de intensidades do componente a 1754 cm⁻¹, com a variação de temperatura, justificam-se pelo facto de que a intensidade do componente com o qual está em ressonância de Fermi, a 1769 cm⁻¹, também varia com a temperatura. Esta atribuição é também suportada pelo facto do valor de r , definido como sendo a razão I_{1754}/I_{1769} , assumir valores similares nos espectros de Raman e de infravermelho da DHCOU líquida (Figura III.13).

A presença de um equilíbrio de dimerização por meio de ligações de hidrogénio do tipo C-H...O, permite explicar a variação de intensidade observada no par 1769/1778 cm⁻¹. O aumento da temperatura leva a uma diminuição das formas diméricas e consequentemente

o componente a 1769 cm^{-1} , atribuída a grupos carbonilo ligados, perde intensidade para o componente a 1778 cm^{-1} , atribuída a grupos carbonilo livres. Simultaneamente, e como era de esperar, verifica-se também a diminuição de intensidade do componente a 1754 cm^{-1} , considerado um sobretom em ressonância de Fermi com o componente a 1769 cm^{-1} . Deste modo, a intensidade total da banda atribuída a grupos carbonilos ligados deverá ser considerada como a soma das intensidades dos componentes a 1754 e 1769 cm^{-1} .

Adicionalmente, pela realização de estudos de diluição em CCl_4 verificou-se que a razão de intensidades I_{1769}/I_{1778} é também afectada pela diluição (Figura III.17).

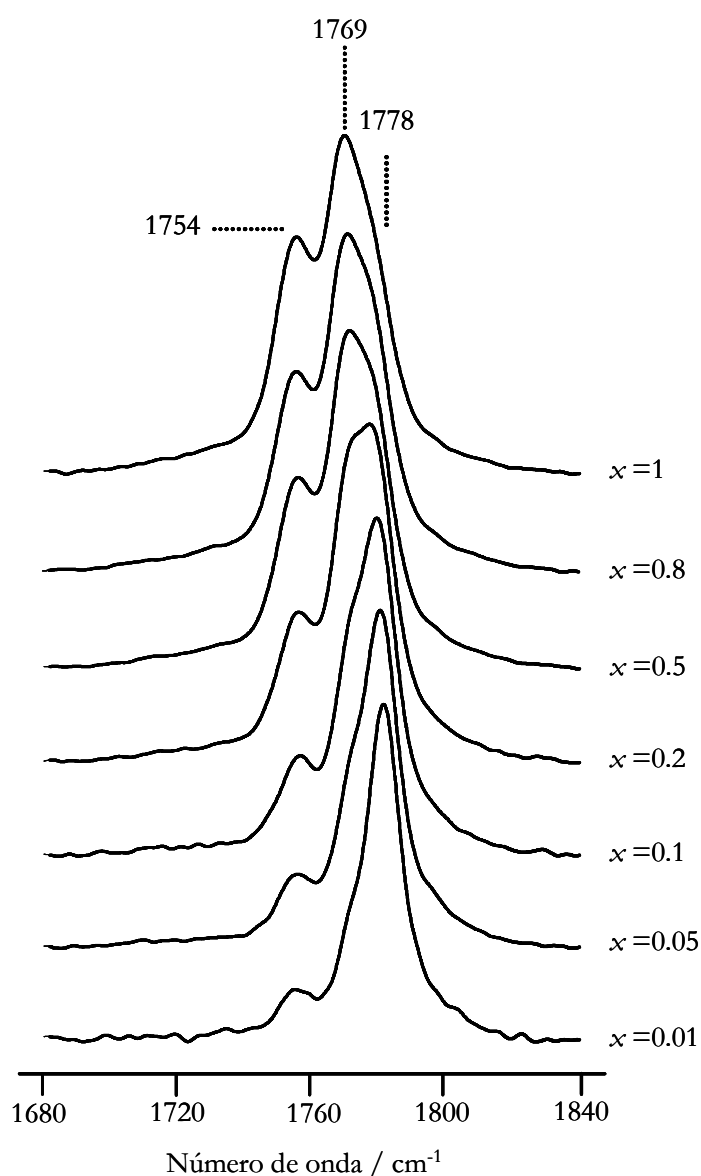


Figura III.17 – Espectros de FT-Raman, à temperatura ambiente e na região $\nu_{\text{C=O}}$ ($1680\text{-}1840\text{ cm}^{-1}$), de soluções de dihidrocoumarina em CCl_4 , com diferentes fracções molares (x).

Os efeitos verificados com a diluição em CCl_4 são semelhantes aos obtidos com a variação de temperatura, embora mais evidentes e estão de acordo com a presença de ligações de hidrogénio do tipo $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ na DHCOU líquida e que deixam de existir em solução. Com a diluição, verifica-se o deslocamento dos vários componentes que constituem a banda de elongação do grupo carbonilo para maiores frequências, efeito devido à polaridade do solvente, assim como o aumento da intensidade do componente a 1778 cm^{-1} (atribuído a grupos carbonilo livres) quando comparada com o componente a 1769 cm^{-1} (atribuído a grupos carbonilo ligados). Adicionalmente, verifica-se também a diminuição da intensidade do componente a 1754 cm^{-1} .

O conjunto total de dados obtidos permite considerar a existência de ligações de hidrogénio do tipo $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ na DHCOU líquida. A complexidade do conjunto de bandas na zona de elongação do grupo carbonilo não permite contudo uma determinação do valor de K_{eq} , como efectuado na Secção anterior para a ciclohexenona. Deste modo, para poder obter-se uma estimativa para o valor de entalpia de dimerização (ΔH°) procedeu-se à representação gráfica de $\ln(I_{1754}+I_{1769})/I_{1778}$ em função do inverso da temperatura (Figura III.18).

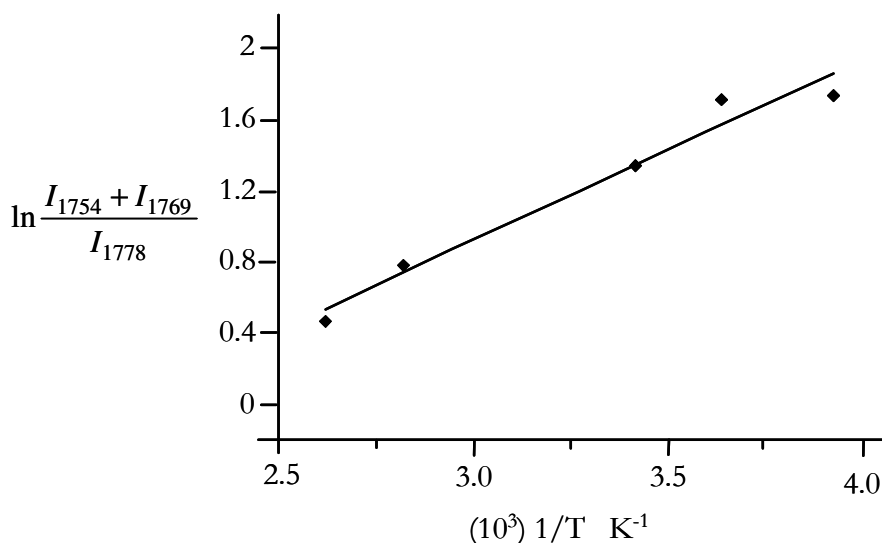


Figura III.18 – Representação gráfica de $\ln(I_{1754}+I_{1769})/I_{1778}$ em função do inverso da temperatura.

O valor obtido, $-8.4 \pm 0.9\text{ kJ mol}^{-1}$, está de acordo com o intervalo de valores obtidos para equilíbrios de dimerização semelhantes^{4,7,8,11,12,84}.

A análise da região dos modos de elongação dos grupos $C-H$, ν_{C-H} , pode elucidar acerca da possível estrutura de dímeros ligados por ligações do tipo $C-H\cdots O$. Adicionalmente e neste âmbito, os cálculos *ab initio* realizados para diferentes estruturas diméricas, envolvendo grupos $C-H$ de diferente natureza, assumem particular importância.

Várias estruturas diméricas baseadas em ligações do tipo $C-H\cdots O$ foram preparadas por combinação do oxigénio carbonílico com todos os grupos $C-H$ presentes no sistema DHCOU e calculadas ao nível da teoria B3LYP/6-31G*. Para uma dessas estruturas (Figura III.19), baseada em dois contactos $C-H\cdots O(=C)$, verificou-se, dada a geometria estabelecida, que o oxigénio tipo éter também poderia estabelecer ligações do tipo $C-H\cdots O$ com o grupo C(3)-H, $-C(3)-H_{eq}\cdots O$. Após contabilização da energia vibracional do ponto zero (ZPVE), o menor valor de energia de dimerização foi obtido para essa estrutura dimérica, que corresponde a um mínimo real ao nível da teoria B3LYP/6-31G*. Esse facto deve-se à estabilidade adicional provocada pela presença da ligação de hidrogénio estabelecida com o oxigénio tipo éter, uma vez que as outras estruturas diméricas, baseadas também em dois contactos do tipo $C-H\cdots O(=C)$, apresentaram energias de dimerização superior.

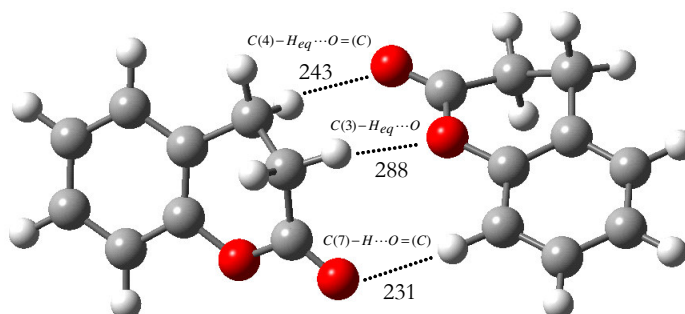


Figura III.19 – Geometria otimizada ao nível B3LYP/6-31G* para uma das estruturas diméricas da dihidrocoumarina de menor energia (após contabilização da energia vibracional do ponto zero, ZPVE).

A análise da região dos modos ν_{C-H} fornece um apoio adicional para a existência de dímeros na DHCOU líquida estabelecidos por contactos $-C(4)-H_{eq}\cdots O(=C)$, $-C(3)-H_{eq}\cdots O$ e $-C(7)-H\cdots O(=C)$, como será discutido posteriormente.

A Figura III.20 apresenta os espectros de infravermelho, na região ν_{C-H} compreendida entre 2750-3150 cm^{-1} , de soluções de DHCOU em CCl_4 com diferentes fracções molares (x).

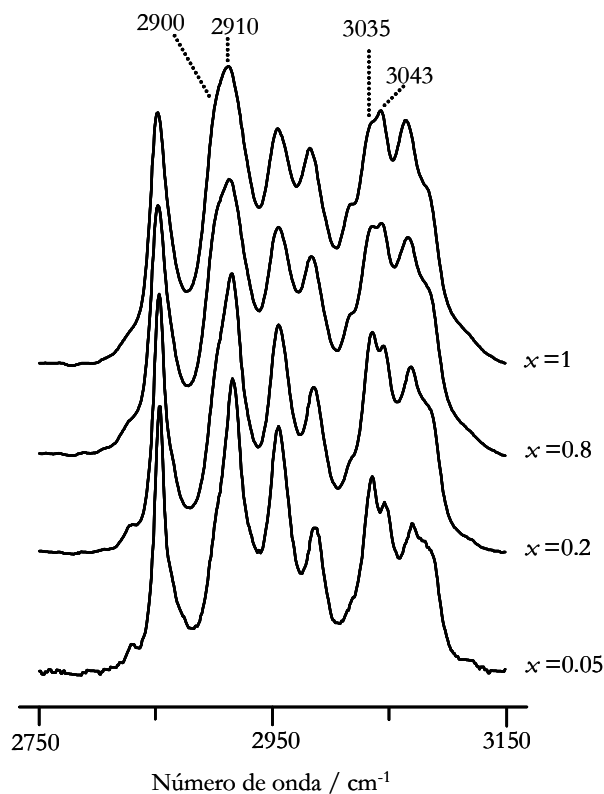


Figura III.20 – Espectros de FT-IR, na região dos modos de elongação dos grupos $C-H$, da dihidrocoumarina pura e de soluções em CCl_4 , com diferentes frações molares (x).

Pela análise da Figura anterior, verifica-se a existência de dois pares de bandas $2900/2910\text{ cm}^{-1}$ e $3035/3043\text{ cm}^{-1}$ com intensidades dependentes da concentração. De facto, com o aumento progressivo da concentração de DHCou verifica-se uma transferência de intensidade da banda a 2910 cm^{-1} para a banda 2900 cm^{-1} e da 3035 cm^{-1} para a banda a 3043 cm^{-1} . Este comportamento pode estar associado à presença de ligações de hidrogénio do tipo $C-H\cdots O$, uma vez que é esperada a formação de uma banda atribuída ao modo $\nu_{C-H(\cdots O)}$, desviada do modo original¹⁸. Desta forma, as bandas a 2900 cm^{-1} e 3043 cm^{-1} podem ser atribuídas a grupos $C-H$ em ligação de hidrogénio, que são desviadas, respectivamente, para o vermelho e para o azul em relação aos correspondentes modos livres.

Adicionalmente, para o par de bandas a $1223/1228\text{ cm}^{-1}$ (zona espectral não evidenciada) verificam-se também alterações que podem ser indicativas da presença de ligações $C-H\cdots O$, tal como a diminuição de intensidade da banda a 1223 cm^{-1} com o aumento de diluição em CCl_4 .

De acordo com os cálculos *ab initio* (Tabela III.5), as bandas que apresentam comportamento dependente da concentração, $1223/1228\text{ cm}^{-1}$, $2900/2910\text{ cm}^{-1}$ e $3035/3043$

cm^{-1} estão relacionadas, respectivamente, com a elongação do grupo C-O , elongação simétrica do grupo C(3)-H_2 e com a elongação assimétrica de um grupo C-H aromático. Este facto constitui um suporte adicional para a existência de dímeros na DHCOU líquida estabelecidos através de contactos $-\text{C(3)-H}_{eq}\cdots\text{O}$ e $-\text{C(7)-H}\cdots\text{O(=C)}$. Relativamente ao contacto $-\text{C(4)-H}_{eq}\cdots\text{O(=C)}$, não foram observados por espectroscopia vibracional desvios notórios nos valores de frequência ou variações de intensidade nos modos de elongação dos grupos C(4)-H_2 , indicativos da sua presença.

No âmbito do estudo de ligações de hidrogénio $\text{C-H}\cdots\text{O}$ pode-se também utilizar (como já referido anteriormente), para além das técnicas mais comuns de espectroscopia vibracional, a técnica de INS como ferramenta essencial na caracterização desta ligação, em particular do modo $\nu_{\text{H}\cdots\text{O}}$, denominado modo anti-translacional. Dado que uma particularidade do INS consiste na simulação de espectros através do programa a-CLIMAX⁹² a partir de cálculos *ab initio*, é possível constatar que o modo $\nu_{\text{H}\cdots\text{O}}$ possui uma elevada intensidade comparativamente à intensidade em infravermelho ou Raman, conforme pode ser visto na Figura III.21.

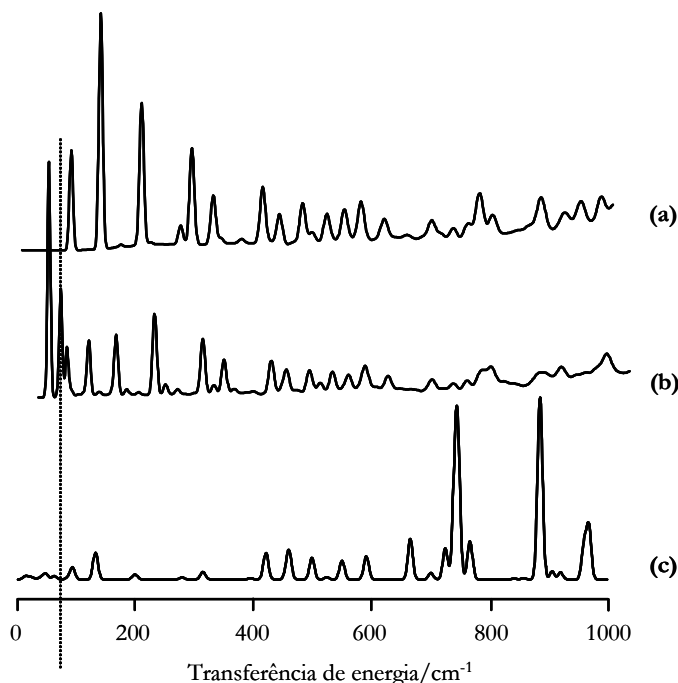


Figura III.21 – Espectros INS (a,b) e de infravermelho (c) simulados para o monómero dihidrocurmarina (a) e para o dímero baseado em ligações de hidrogénio $\text{C-H}\cdots\text{O}$ (b,c). A linha a tracejado indica a posição do modo anti-translacional $\nu_{\text{H}\cdots\text{O}}$.

Na tentativa de se localizar evidências da presença de ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$ por espectroscopia de INS, particularmente o modo $\nu_{H\cdots O}$, registaram-se os espectros de amostras de DHCOU pura e diluída em CCl_4 . Este solvente é adequado para este tipo de experiências, pois para além de não contribuir para a formação de ligações de hidrogénio, possibilita a visualização do espectro de INS sem interferências de moléculas com elevado teor de hidrogénio, uma vez que a secção eficaz de difusão H/Cl é superior a 15.

Na Figura III.22 são apresentados os espectros de INS da DHCOU pura e de diferentes soluções em CCl_4 .

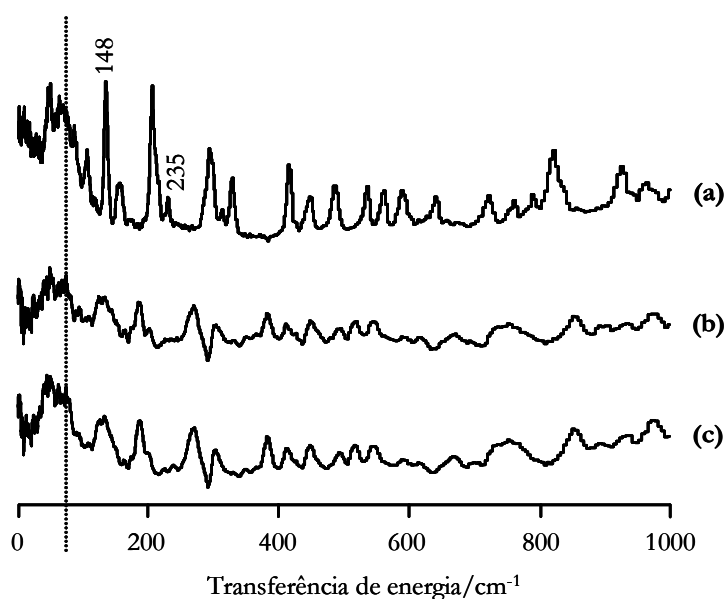


Figura III.22 – Espectros INS obtidos para amostras de dihidrocurmarina pura (a) e de soluções em CCl_4 com diferentes fracções molares, $x=0.5$ (b) e $x=0.1$ (c).

Tendo em consideração a localização do modo anti-translacional $\nu_{H\cdots O}$, prevista pelos cálculos *ab initio* (Figura III.22-linha a tracejado), verifica-se que os espectros de INS obtidos não são elucidativos o suficiente para o objectivo pretendido. De facto, a zona dos modos de baixas frequências, para a qual é esperada a ocorrência do modo $\nu_{H\cdots O}$, é bastante complexa. Esta situação deve-se em grande parte à existência de modos externos (devidos ao ambiente que rodeia as moléculas), sobretudo abaixo dos 200 cm^{-1} , como resultado do facto dos espectros de INS serem obtidos a uma temperatura bastante baixa, 20K, o que leva a que as amostras se encontrem em estado sólido.

No entanto, verificam-se algumas diferenças entre os espectros INS da DHCOU pura (Figura III.22a) e em solução (Figura III.22b,c), nomeadamente a diminuição de intensidade

das bandas a 148 e 235 cm^{-1} com o aumento da diluição em CCl_4 . A banda a 148 cm^{-1} , com correspondente banda observada a 145 cm^{-1} no espectro de Raman, é atribuída, de acordo com os cálculos *ab initio* efectuados para o monómero (135 cm^{-1}) e para dímeros baseados em ligações $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ (138 cm^{-1}) a uma deformação do anel heterocíclico que envolve assim movimento dos átomos de hidrogénio constituintes desse anel. A banda observada a 235 cm^{-1} não é prevista por cálculos estabelecidos quer para o monómero quer para os dímeros, indicando tratar-se de um modo externo.

III.3.3 – Conclusões

A atribuição completa do espectro vibracional da DHCOU foi estabelecida com base nos valores de frequência calculados para os modos normais do monómero e por comparação com sistemas similares tais como a α -PIR e COU. Este constituiu o primeiro passo para a correcta interpretação do espectro vibracional em termos estruturais.

A presença de ligações de hidrogénio $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ na DHCOU líquida foi evidenciada pela análise dos espectros vibracionais na região dos modos vibracionais $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ e $\nu_{\text{C}-\text{H}}$, regiões espectrais nas quais é esperado que ocorram alterações indicativas da presença de interacções intermoleculares $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$. Ambas as regiões apresentam bandas com comportamentos dependentes quer da temperatura quer da diluição e que podem ser interpretados em termos da presença de um equilíbrio de dimerização estabelecido por ligações de hidrogénio $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$. Adicionalmente, pelos estudos de variação de temperatura estimou-se um valor de entalpia para o processo de dimerização, $\Delta H^\circ = -8.4 \pm 0.9 \text{ kJ mol}^{-1}$, que está de acordo com o intervalo de valores obtidos para equilíbrios de dimerização semelhantes^{4,7,8,11,12,84}.

Os cálculos *ab initio*, suportados pela análise dos espectros vibracionais na região de elongação dos grupos $\text{C}-\text{H}$, providenciam um suporte adicional para a existência de dímeros na DHCOU líquida estabelecidos por contactos $-\text{C}(4)-\text{H}_{eq}\cdots\text{O}(=\text{C})$, $-\text{C}(3)-\text{H}_{eq}\cdots\text{O}$ e $-\text{C}(7)-\text{H}\cdots\text{O}(=\text{C})$.

Na tentativa de se localizar evidências adicionais da presença de ligações de hidrogénio $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ recorreu-se à técnica de INS, particularmente útil na detecção do modo $\nu_{\text{H}\cdots\text{O}}$. No entanto, para o objectivo pretendido, os resultados mostraram-se inconclusivos devido ao elevado número de modos externos existente na zona para a qual é esperada, de acordo com os cálculos *ab initio*, a ocorrência do modo anti-translacional, $\nu_{\text{H}\cdots\text{O}}$.

III.4 – Bibliografia

1. Castellano RK 2004. Progress toward understanding the nature and function of C-H...O interactions. *Curr Org Chem* 8:845-865.
2. Mizuno K 2000. Hydration of the CH groups in dimethyl sulfoxide probed by NMR and IR. *J Phys Chem B* 104:11001-11005.
3. Goutev N, Matsuura H 2001. Hydrogen bonding in chloroform solutions of ethylenedioxy ethers. Spectroscopic evidence of bifurcated hydrogen bonds. *J Phys Chem A* 105:4741-4748.
4. Marques MPM, Amorim da Costa AM, Ribeiro-Claro PJA 2001. Evidence of C-H...O hydrogen bonds in liquid 4-ethoxybenzaldehyde by NMR and vibrational spectroscopies. *J Phys Chem A* 105:5292-5297.
5. van der Veken BJ, Herrebout WA, Szostak R, Shchepkin DN, Havlas Z, Hobza P 2001. The nature of improper, blue-shifting hydrogen bonding verified experimentally. *J Am Chem Soc* 123:12290-12293.
6. Chao M-C, Weng N-H, Chang H-C, Jiang J-C, Lin SH 2001. High-pressure and concentration-dependent studies on C-H...O interactions of binary aqueous mixtures: formic acid/D₂O and acetone/D₂O. *J Chin Chem Soc* 48:603-607.
7. Ribeiro-Claro PJA, Drew MGB, Félix V 2002. C-H...O bonded dimers in 2-methoxybenzaldehyde studied by X-ray crystallography, vibrational spectroscopy, and ab initio calculations. *Chem Phys Lett* 356:318-324.
8. Ribeiro-Claro PJA, Marques MPM, Amado AM 2002. Experimental and theoretical evidence of C-H...O hydrogen bonding in liquid 4-fluorobenzaldehyde. *ChemPhysChem* 3:599-606.
9. Blatchford MA, Raveendran P, Wallen SL 2002. Raman spectroscopic evidence for cooperative C-H...O interactions in the acetaldehyde-CO₂ complex. *J Am Chem Soc* 124:14818-14819.
10. Melikova SM, Rutkowski KS, Rodziewicz P, Koll A 2002. Unusual spectroscopic properties of CF₃H dissolved in liquified Ar, N₂, CO, and CO₂. *Chem Phys Lett* 352:301-310.
11. Vaz PD, Ribeiro-Claro PJA 2003. Strong experimental evidence of C-H...O hydrogen bonds in cyclopentanone: the splitting of the $\nu(\text{C}=\text{O})$ mode revisited. *J Phys Chem A* 107:6301-6305.
12. Vaz PD, Ribeiro-Claro PJA 2003. C-H...O hydrogen bonds in liquid cyclohexanone revealed by the $\nu\text{C}=\text{O}$ splitting and the $\nu\text{C}-\text{H}$ blue shift. *J Raman Spectrosc* 34:863-867.
13. Blatchford MA, Raveendran P, Wallen SL 2003. Spectroscopic studies of model carbonyl compounds in CO₂: Evidence for cooperative C-H...O interactions. *J Phys Chem A* 107:10311-10323.
14. Matsuura H, Yoshida H, Hieda M, Yamanaka S-y, Harada T, Shin-ya K, Ohno K 2003. Experimental evidence for intramolecular blue-shifting C-H...O hydrogen bonding by matrix-isolation infrared spectroscopy. *J Am Chem Soc* 125:13910-13911.
15. Mizuno K, Imafuji S, Fujiwara T, Ohta T, Tamiya Y 2003. Hydration of the CH groups in 1,4-dioxane probed by NMR and IR: contribution of blue-shifting C-H...OH₂ hydrogen bond. *J Phys Chem B* 107:3972-3978.
16. Wójcik J, Kamińska-Trela K, Pecul M, Bartoszek-Adamska E, Vdovienko SI, Gerus II 2004. Improper hydrogen C-H...O bonds cause self-association of α,β -enaminoketones containing fluorosubstituted alkyl groups. *ChemPhysChem* 5:209-215.
17. Xu Z, Li HR, Wang CM, Wu T, Han SJ 2004. Is the blue shift of C-H vibration in DMF-water mixture mainly caused by C-H...O interaction? *Chem Phys Lett* 94:405-409.

18. Ribeiro-Claro PJA, Vaz PD 2004. Towards the understanding of the spectroscopic behaviour of the C-H oscillator in C-H \cdots O hydrogen bonds: the effect of solvent polarity. *Chem Phys Lett* 390:358-361.
19. Zhang R, Li HR, Lei Y, Han S 2004. Structures and interactions in N-methylacetamide-water mixtures studied by IR spectra and density functional theory. *J Mol Struct* 693:17-25.
20. Vaz PD, Ribeiro-Claro PJA 2005. C-H \cdots O hydrogen bonds in small ring carbonyl compounds: vibrational spectroscopy and ab initio calculations. *Struct Chem* 16:287-293.
21. Xiang SJ, Yu GQ, Liang YM, Wu LM 2006. NMR and DFT studies of steric effects on intermolecular C-H \cdots O hydrogen bonding in solution. *J Mol Struct* 789:43-51.
22. Vaz PD, Ribeiro-Claro PJA 2005. The role of C-H \cdots O interactions in the solid and liquid-phase structures of methyltrioxo rhenium. *Eur J Inorg Chem* 1836-1840.
23. Vaz PD, Nolasco M, Fonseca N, Amado AM, Amorim da Costa AM, Felix V, Drew MGB, Goodfellow BJ, Ribeiro-Claro PJA 2005. C-H \cdots O hydrogen bonding in 4-phenylbenzaldehyde: a comprehensive crystallographic, spectroscopic and computational study. *Phys Chem Chem Phys* 7:3027-3034.
24. Su C-C, Chang H-C, Jiang J-C, Wei P-Y, Lu L-C, Lin SH 2003. Evidence of charge-enhanced C-H \cdots O interactions in aqueous protonated imidazole probed by high pressure infrared spectroscopy. *J Chem Phys* 119:10753-10758.
25. Delanoye SN, Herrebout WA, van der Veken BJ 2002. Blue shifting hydrogen bonding in the complexes of chlorofluoro haloforms with acetone-d₆ and oxirane-d₄. *J Am Chem Soc* 124:11854-11855.
26. Delanoye SN, Herrebout WA, van der Veken BJ 2005. Stabilities of the C-H \cdots O bonded complexes of the haloforms HCCl_nF_{3-n} (n=0-3) with dimethyl ether, oxirane, and acetone: an experimental and theoretical study. *J Phys Chem A* 109:9836-9843.
27. Kumler WD 1935. The effect of the hydrogen bond on the dielectric constants and boiling points of organic liquids. *J Am Chem Soc* 57:600-605.
28. Glasstone S 1937. The structure of some molecular complexes in the liquid phase. *Trans Faraday Soc* 33:200-206.
29. Sutor DJ 1962. The C-H \cdots O hydrogen bond in crystals. *Nature* 195:68-69.
30. Sutor DJ 1963. Evidence for the existence of C-H \cdots O hydrogen bonds in crystals. *J Chem Soc* 1105-1110.
31. Donohue J 1968. Structural chemistry and molecular biology. Selected topics in hydrogen bonding, p443, editado por Rich A e Davidson N, Freeman, San Francisco.
32. Taylor R, Kennard O 1982. Crystallographic evidence for the existence of C-H \cdots O, C-H \cdots N, and C-H \cdots Cl hydrogen bonds. *J Am Chem Soc* 104:5063-5070.
33. Desiraju GR 1989. Distance dependence of C-H \cdots O interactions in some chloroalkyl compounds. *Chem Commun* 179-180.
34. Desiraju GR 1990. Strength and linearity of C-H \cdots O bonds in molecular crystals: a database study of some terminal alkynes. *Chem Commun* 454-455.
35. Desiraju GR 1991. The C-H \cdots O hydrogen bonds in crystals: what is it? *Acc Chem Res* 24:290-296.
36. Novoa JJ, Tarron B, Whangbo M-H, Williams JM 1991. Interaction energies associated with short intermolecular contacts of C-H bonds. Ab initio computational study of the C-H \cdots O contact interaction in CH₄ \cdots OH₂. *J Chem Phys* 95:5179-5186.
37. Popelier PLA, Bader RFW 1992. The existence of an intramolecular C-H-O hydrogen in creatine and carbamoyl sarcosine. *Chem Phys Lett* 189:542-548.
38. Turi L, Dannenberg JJ 1993. Molecular orbital study of acetic acid aggregation. 1. Monomers and dimers. *J Phys Chem* 97:12197-12204.

39. Gil FPSC, Teixeira-Dias JJC 1996. C-H...O intramolecular interactions determining conformational stabilities in 2-propoxyethanol. *J Mol Struct (Theochem)* 363:311-317.
40. Turi L 1996. Ab initio molecular orbital analysis of dimers of cis-formic acid. Implications for condensed phases. *J Phys Chem* 100:11285-11291.
41. Koch U, Popelier PLA 1995. Characterization of C-H...O hydrogen bonds on the basis of the charge density. *J Phys Chem* 99:9747-9754.
42. Jeffrey GA 1999. The ups and downs of C-H hydrogen bonds. *J Mol Struct* 485-486:293-298.
43. Boldeskul IE, Tsymbal IF, Ryltsev EV, Latajka Z, Barnes AJ 1997. Reversal of the usual $\nu(\text{C-H/D})$ spectral shift of haloforms in some hydrogen-bonded complexes. *J Mol Struct* 436-437:167-171.
44. Hobza P, Spirko V, Selzle H, Schlag EW 1998. Anti-hydrogen bond in the benzene dimer and other carbon proton donor complexes. *J Phys Chem A* 102:2501-2504.
45. Hobza P, Spirko V, Havlas Z, Buchhold K, Reimann B, Barth H-D, Brutschy B 1999. Anti-hydrogen bond between chloroform and fluorobenzene. *Chem Phys Lett* 299:180-186.
46. Cubero E, Orozco M, Hobza P, Luque FJ 1999. Hydrogen bond versus anti-hydrogen bond: a comparative analysis based on the electron density topology. *J Phys Chem A* 103:6394-6401.
47. Hobza P, Havlas Z 2000. Blue-shifting hydrogen bonds. *Chem Rev* 100:4253-4264.
48. Hobza P 2001. The H-index unambiguously discriminates between hydrogen bonding and improper blue-shifting hydrogen bonding. *Phys Chem Chem Phys* 3:2555-2556.
49. Hobza P, Havlas Z 2002. Improper, blue-shifting hydrogen bond. *Theor Chem Acc* 108:325-334.
50. Gu Y, Kar T, Scheiner S 1999. Fundamental properties of the C-H...O interaction: is it a true hydrogen bond? *J Am Chem Soc* 121:9411-9422.
51. Gu Y, Kar T, Scheiner S 2000. Comparison of the C-H...N and C-H...O interactions involving substituted alkanes. *J Mol Struct* 552:17-31.
52. Scheiner S, Kar T 2002. Red-versus blue-shifting hydrogen bonds: are there fundamental distinctions? *J Phys Chem A* 106:1784-1789.
53. Hermansson K 2002. Blue-shifting hydrogen bonds. *J Phys Chem A* 106:4695-4702.
54. Qian W, Krimm S 2002. Vibrational spectroscopy of hydrogen bonding: origin of the different behavior of the C-H...O hydrogen bond. *J Phys Chem A* 106:6628-6636.
55. Li X, Liu L, Schlegel HB 2002. On the physical origin of blue-shifted hydrogen bonds. *J Am Chem Soc* 124:9639-9647.
56. Barnes AJ 2004. Blue-shifting hydrogen bonds-are they improper or proper? *J Mol Struct* 704:3-9.
57. Nguyen HMT, Peeters J, Zeegers-Huyskens T 2006. Theoretical study of the blue-shifting hydrogen bonds between CH_2X_2 and CHX_3 ($\text{X}=\text{F}, \text{Cl}, \text{Br}$) and hydrogen peroxide. *J Mol Struct* 792-793:16-22.
58. Desiraju GR, Steiner T 1999. The weak hydrogen bond in structural chemistry and biology. Oxford University Press, Oxford.
59. Huggins CM, Pimentel GC 1955. Infrared intensity of the C-D stretch of chloroform-d in various solvents. *J Chem Phys* 23:896-898.
60. Allerhand A, Schleyer PvR 1963. A survey of C-H groups as proton donors in hydrogen bonding. *J Am Chem Soc* 85:1715-1723.
61. DeLaat AM, Ault BS 1987. Infrared matrix isolation study of hydrogen bonds involving C-H bonds: alkynes with oxygen bases. *J Am Chem Soc* 109:4232-4236.

62. Kleeberg H, Eisenberg C, Zinn T 1990. IR spectroscopic investigation of solvent effects and H-bond formation on the CD stretching frequency of chloroform. *J Mol Struct* 240:175-186.
63. Lutz BTG, van der Maas JH, Kanters JA 1994. Spectroscopic evidence for interaction in crystalline steroids and reference compounds. *J Mol Struct* 325:203-214.
64. Steiner T, Lutz B, van der Maas J, Veldman N, Schreurs AMM, Kroon J, Kanters JA 1997. Spectroscopic evidence for cooperativity effects involving C-H \cdots O hydrogen bonds: crystalline mestranol. *Chem Commun* 191-192.
65. Steiner T, van der Maas J, Lutz BTG 1997. Constructing a short C-H \cdots O hydrogen bond. The crystalline complex of triphenylsilyl-acetylene and triphenylphosphin oxide. A very unusual crystal structure with $Z=7$ e $Z'=3.5$. *J Chem Soc Perkin Trans 2* 1287-1291.
66. Kariuki BM, Harris KDM, Philp D, Robinson JMA 1997. A triphenylphosphine oxide-water aggregate facilitates an exceptionally short C-H \cdots O hydrogen bond. *J Am Chem Soc* 119:12679-12679.
67. Joseph J, Jemmis ED 2007. Red-, blue-, or no-shift in hydrogen bonds: a unified explanation. *J Am Chem Soc* 129:4620-4632.
68. Budesinský M, Fiedler P, Arnold Z 1989. Triformylmethane: an efficient preparation, some derivatives, and spectra. *Synthesis* 858-860.
69. Daniel DC, McHale JL 1997. Hydrogen bonding in CHCl₃/DMSO-d₆ and CDCl₃/DMSO-h₆ mixtures. *J Phys Chem A* 101:3070-3077.
70. Mizuno K, Ochi T, Shindo Y 1998. Hydrophobic hydration of acetone probed by nuclear magnetic resonance and infrared: evidence for the interaction C-H \cdots OH₂. *J Chem Phys* 109:9502-9507.
71. Karger N, Amorim da Costa AM, Ribeiro-Claro PJA 1999. C-H \cdots O bonded dimers in liquid 4-Methoxybenzaldehyde: a study by NMR, vibrational Spectroscopy, and ab initio calculations. *J Phys Chem A* 103:8672-8677.
72. de Matas M, Edwards HGM, Lawson EE, Shields L, York P 1998. FT-Raman spectroscopic investigation of a pseudopolymorphic transition in caffeine hydrate. *J Mol Struct* 440:97-104.
73. Hartmann M, Wetmore SD, Radom L 2001. C-H \cdots X hydrogen bonds of acetylene, ethylene and ethane with first- and second-row hydrides. *J Phys Chem A* 105:4470-4479.
74. Masunov A, Dannenberg JJ, Contreras RH 2001. C-H bond shortening upon hydrogen bond formation: influence of an electric field. *J Phys Chem A* 105:4737-4740.
75. Scheiner S, Grabowski SJ, Kar T 2001. Influence of hybridization and substitution on the properties of the C-H \cdots O hydrogen bond. *J Phys Chem A* 105:10607-10612.
76. Knapp EW 1984. Vibrational line shapes in liquids. The role of resonant intermolecular coupling. *J Chem Phys* 81:643-652.
77. Knapp EW, Fischer SF 1982. The concentration dependence of the vibrational linewidth and shift in liquid binary mixtures: an analytical model. *J Chem Phys* 76:4730-4735.
78. Knapp EW, Fischer SF 1981. On the theory of homogeneous and inhomogeneous line broadening. An exactly solvable model. *J Chem Phys* 74:89-95.
79. Nolasco MM, Ribeiro-Claro PJA 2005. C-H \cdots O hydrogen bonds in cyclohexenone reveal the spectroscopic behavior of C_{sp3}-H and C_{sp2}-H donors. *ChemPhysChem* 6:496-502.
80. Nam SI, Min ES, Jung YM, Lee MS 2001. Fermi resonance and solvent dependence of the ν C=O frequency shifts of Raman spectra: cyclohexanone and 2-cyclohexen-1-one. *Bull Korean Chem Soc* 22:989-993.
81. Chamma D, Henri-Rousseau O 1999. IR theory of weak H-bonds: Davydov coupling, Fermi resonances and direct relaxations. II. General trends, from numerical experiments. *Chem Phys* 248:71-89.

82. Pemberton RS, Shurvell HF 1995. Raman spectroscopic study of complex formation between p-cresol and propionitrile. *J Raman Spectrosc* 26:373-380.
83. Girling RB, Shurvell HFA 1998. Raman spectroscopic study of complex formation between o-cresol and propionitrile. *Vib Spectrosc* 18:77-82.
84. Goel A, Rao CNR 1971. Hydrogen bonds formed by C-H groups. *Trans Faraday Soc* 2828-2832.
85. Durov VA 1998. Modeling of supramolecular ordering in molecular liquids: structure, physicochemical properties, and macroscopic manifestations. *J Mol Liq* 78:51-82.
86. Chen JS, Wu CC, Kao DY 2004. New approach to IR study of monomer-dimer self-association: 2,2-dimethyl-3-ethyl-3-pentanol in tetrachloroethylene as an example. *Spectrochim Acta A* 60:2287-2293.
87. Lord RC, Nolin B, Stidham HD 1955. Quantitative study of the bonding of chloroform-d in various solvents by infrared spectrometry. *J Am Chem Soc* 77:1365-1368.
88. Swift S, Throup JP, Williams P, Salmond GPC, Stewart GSAB 1996. Quorum sensing: a population-density component in the determination of bacterial phenotype. *Trends Biochem Sci* 21:214-219.
89. Beppu T 1995. Signal transduction and secondary metabolism: prospects for controlling productivity. *Trends Biotechnol* 13:264-269.
90. Fausto R, Quinteiro G, Breda S 2001. Vibrational spectroscopy and ab initio MO study of the molecular structure and vibrational spectra of α - and γ -pyones. *J Mol Struct* 598:287-303.
91. Scott AP, Radom L 1996. Harmonic vibrational frequencies: an evaluation of Hartree-Fock, Møller-Plesset, quadratic configuration interaction, density functional theory, and semiempirical scale factors. *J Phys Chem* 100:16502-16513.
92. Ramirez-Cuesta AJ auntie-CLIMAX: The new software for analysing and interpreting INS spectra, ver.4.0, RAL-ISIS, Chilton, Reino Unido.

Capítulo IV

PiMM: Pares em Materiais Moleculares

*“Nada no mundo
faz as pessoas terem tanto medo
quanto a influência das pessoas
que têm a mente independente”*

A. Einstein

ÍNDICE

Capítulo IV

<i>PiMM: Pares em Materiais Moleculares</i>	107
RESUMO	109
IV.1 – Introdução	110
IV.1.1 – Metodologia PiMM – Pares em Materiais Moleculares	110
IV.1.2 – Interesse das metil-xantinas como sistemas de estudo	112
IV.2 – Resultados e discussão	114
IV.2.1 – Selecção de pares moleculares representativos das estruturas cristalinas	114
IV.2.1.1 – Teofilina	115
IV.2.1.2 – Teobromina e cafeína	118
IV.2.2 – Aplicação da metodologia PiMM na atribuição vibracional	122
IV.2.2.1 – Teofilina	122
IV.2.2.2 – Teobromina e cafeína	130
IV.3 – Conclusões	138
IV.4 – Bibliografia	140

RESUMO

Com base numa nova metodologia, designada PiMM – Pares em Materiais Moleculares, foi efectuada uma investigação sistemática das transformações pseudopolimórficas e interacções intermoleculares existentes nas formas anidras e hidratadas estáveis à temperatura ambiente da teofilina, teobromina e cafeína (metil-xantinas), assim como uma atribuição completa e consistente dos seus espectros vibracionais (FT-IR e FT-Raman). Os desvios vibracionais provocados por interacções existentes no empacotamento cristalino são estimados por cálculos *ab initio* ao nível B3LYP/6-31G* para pares moleculares representativos das interacções existentes.

A metodologia desenvolvida neste Capítulo constitui uma ferramenta extremamente útil na atribuição fidedigna do espectro vibracional das metil-xantinas e clarifica algumas atribuições erróneas encontradas na literatura. As interacções intermoleculares mais relevantes em cada sistema e os seus efeitos nos espectros vibracionais são considerados e discutidos. Adicionalmente, foi sugerida uma estrutura para a cafeína na forma anidra estável à temperatura ambiente, cuja estrutura cristalina ainda não foi estabelecida, com base em ligações de hidrogénio intermoleculares fracas do tipo $C-H\cdots O$ e $C-H\cdots N$.

No presente Capítulo, é desenvolvida uma metodologia com apoio computacional PiMM- que permite a atribuição de espectros vibracionais por comparação com espectros simulados. A aplicação desta nova metodologia é feita na atribuição completa dos espectros vibracionais das metil-xantinas teofilina (TP), teobromina (TB) e cafeína (CA).

Numa primeira parte do Capítulo é apresentada a metodologia PiMM – Pares em Materiais Moleculares sendo seguidamente explicado o interesse das metil-xantinas como sistemas de estudo. De seguida, os resultados são discutidos em duas secções, nomeadamente: 1) descrição das estruturas cristalinas das metil-xantinas com base em cálculos *ab initio* realizados ao nível B3LYP/6-31G*; 2) investigação sistemática das transições pseudopolimórficas e interacções intermoleculares existentes nas formas anidras e hidratadas da TP, TB e CA e atribuição completa, estabelecida com base na metodologia PiMM, dos espectros FT-Raman e FT-IR das referidas formas.

IV.1 – Introdução

IV.1.1 – Metodologia PiMM – Pares em Materiais Moleculares

A atribuição completa de espectros vibracionais não é uma tarefa fácil. De facto, a atribuição de todas as bandas observadas experimentalmente a vibrações específicas pode ser considerada um problema com excesso de incógnitas. De maneira a ultrapassar esta dificuldade, é usual recorrer-se ao uso dos cálculos teóricos como um suporte no estabelecimento de atribuições vibracionais fidedignas. A utilidade dos cálculos teóricos, particularmente os métodos da Teoria do Funcional de Densidade (DFT), para auxiliar e complementar estudos espectroscópicos vibracionais, foi recentemente realçada¹. Esta aproximação para atribuir espectros vibracionais por comparação com espectros simulados foi já aplicada com sucesso em vários sistemas²⁻⁵.

No entanto, uma das maiores limitações da utilização de cálculos *ab initio* na previsão de espectros vibracionais resulta da complexidade dos cálculos envolvidos, que impõem limitações severas à dimensão do sistema em estudo. Apesar do desenvolvimento computacional verificado durante os últimos anos, é ainda difícil trabalhar com sistemas que envolvam mais do que algumas dezenas de átomos, razão pela qual a maior parte dos cálculos são efectuados para uma situação de molécula isolada. Os espectros previstos por esta abordagem descrevem apropriadamente os espectros de moléculas em fase gasosa e podem ser usados, com algumas reservas, na simulação de espectros de moléculas em fase líquida e de

soluções. No entanto, não descrevem apropriadamente os espectros de moléculas no estado sólido, particularmente em sistemas que apresentem na sua estrutura cristalina interações intermoleculares fortes.

Uma nova metodologia proposta neste capítulo, PiMM – Pares em Materiais Moleculares, permite ultrapassar esta limitação ao assumir as interações intermoleculares no sólido cristalino como perturbações às frequências vibracionais da molécula isolada. Dentro desta aproximação, a frequência vibracional do modo normal (v_i) é dada pelo seu valor calculado para a molécula isolada somado às correcções resultantes das perturbações provocadas pelos contactos com as moléculas vizinhas no cristal ($\sum \Delta v_i$):

$$v_i(\text{cristal}) = v_i(\text{isolada}) + \sum \Delta v_i^{(1)}(\text{directo}) + \sum \Delta v_i^{(1)}(\text{indirecto}) + \sum \Delta v_i^{(2)}(\text{directo}) + \sum \Delta v_i^{(2)}(\text{indirecto}) + \dots \quad (1)$$

Na equação (1), o termo “directo” refere-se ao efeito de um contacto intermolecular nos osciladores envolvidos nesse contacto, como por exemplo, o efeito da ligação de hidrogénio $O-H \cdots O$ nos modos vibracionais do grupo $O-H$. Por sua vez, o termo “indirecto” refere-se aos efeitos do mesmo contacto nos restantes modos, como por exemplo, o efeito da mesma ligação de hidrogénio $O-H \cdots O$ nos modos envolvendo outros osciladores situados em outras zonas da molécula. Os índices (1) e (2) aplicam-se respectivamente à primeira e segunda camada de moléculas vizinhas.

Assumindo que apenas a primeira camada de moléculas vizinhas afecta significativamente a frequência vibracional calculada para a molécula isolada, a equação (1) pode ser simplificada:

$$v_i(\text{cristal}) = v_i(\text{isolada}) + \sum \Delta v_i^{(1)}(\text{directo}) + \sum \Delta v_i^{(1)}(\text{indirecto}) \quad (2)$$

e as correcções são obtidas por cálculos de frequências estabelecidos para todos os pares moleculares necessários para descrever os diferentes contactos intermoleculares presentes no cristal (depois da geometria ser completamente optimizada).

A equação (2), versão simplificada da equação (1), não considera nem os efeitos das interações de longo alcance nem o efeito de cooperatividade das várias interações. Embora a quantificação da importância que estes efeitos possam assumir seja uma tarefa difícil, pode ser

estimada por comparação dos resultados obtidos para os pares moleculares com os obtidos para associações mais numerosas de moléculas. Para um conjunto de cálculos efectuados para associações de três e quatro moléculas, verificou-se que estes efeitos afectam, em média, os desvios previstos, por aproximadamente 5 cm^{-1} . Contudo, são observadas diferenças de 25-35 cm^{-1} nos modos vibracionais mais sensíveis.

Adicionalmente, esta metodologia permite a previsão, tendo como referência o espectro experimental, dos contactos intermoleculares em sólidos de estrutura desconhecida, pela identificação de pontos de contacto relevantes na paisagem de energia potencial da molécula.

Esta nova metodologia com apoio computacional, PiMM, foi aplicada na atribuição de espectros vibracionais de sistemas sólidos orgânicos, particularmente da teofilina, teobromina e cafeína com base no cálculo de frequências e de intensidades para geometrias completamente optimizadas, ao nível B3LYP/6-31G*. Este nível permite obter uma boa relação qualidade/custo computacional na optimização de geometrias e cálculo de frequências vibracionais para sistemas orgânicos.

IV.1.2 – Interesse das metil-xantinas como sistemas de estudo

Em várias operações realizadas em indústrias farmacêuticas, tais como a cristalização, processos de secagem ou mesmo durante o armazenamento, algumas substâncias podem sofrer alterações de fase. Esta situação pode originar diferentes empacotamentos cristalinos e/ou diferentes conformações moleculares em compostos com a mesma composição química, permitindo assim que alguns sólidos farmacêuticos existam na forma de duas ou mais formas cristalinas (formas polimórficas)^{6,7}. Adicionalmente, verifica-se em alguns sólidos cristalinos que a água existente no meio envolvente pode incorporar-se na rede cristalina em posições específicas, formando-se assim um hidrato com uma célula unitária diferente da apresentada pela forma anidra. Este efeito é análogo ao polimorfismo. No entanto, para distinguir hidratos de polimorfos, utiliza-se o termo pseudopolimorfismo (solvatos e hidratos)⁸. Este termo refere-se a formas cristalinas que possuem, como parte integrante da estrutura, algumas moléculas de solvente, que na maioria dos casos é a água (hidrato).

O comportamento polimórfico e pseudopolimórfico de sólidos farmacêuticos é uma área de elevado interesse para as indústrias farmacêuticas, dado que diferentes formas polimórficas e pseudopolimórficas podem apresentar propriedades farmacêuticas notoriamente diferentes⁹⁻¹².

Os sistemas teofilina (1,3-dimetilpurina-2,6-diona, TP), teobromina (3,7-dimetilpurina-2,6-diona, TB) e cafeína (1,3,7-trimetilpurina-2,6-diona), também conhecidas por metil-xantinas (Figura IV.1) são sólidos de interesse farmacêutico extensamente encontrados em regimes alimentares humanos. Podem ser encontrados em produtos alimentares tais como o chá, café e grãos de cacau, sendo, por exemplo, a TB e CA as xantinas mais abundantes no chocolate. Por outro lado, estes compostos têm várias aplicações médicas, sendo regularmente prescritos. A CA, por exemplo, é utilizada como um estimulante cardíaco, respiratório e do sistema nervoso central, enquanto que a TP e TB são amplamente utilizadas como relaxantes musculares. A TP é também usada como um broncodilatador, no tratamento de bronquite asmática e apneia neonatal¹³ e no tratamento de epilepsia¹⁴. Estas três metil-xantinas são também conhecidas por causar diurese¹⁵, enquanto que o consumo de CA pode proteger os ratos contra doses letais de radiação- γ ¹⁶.

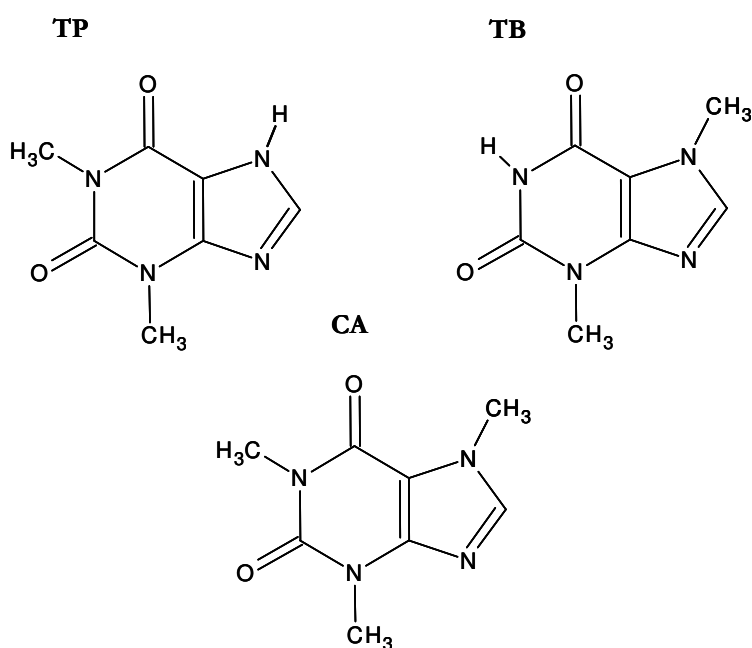


Figura IV.1 – Representação esquemática das metil-xantinas: teofilina (TP), teobromina (TB) e cafeína (CA).

Na literatura existente encontra-se bem documentado que a TP e CA são susceptíveis de sofrer transformações polimórficas e pseudopolimórficas¹⁷⁻²⁹ reversíveis anidro \leftrightarrow hidrato, que afectam os seus comportamentos de dissolução e consequentemente a sua biodisponibilidade^{20,30,31}. De facto, é conhecido que estes sistemas (TP e CA) cristalizam com

diferentes estados cristalinos, nomeadamente formas anidras e hidratadas^{22,32-36}, enquanto que a TB existe apenas na forma anidra.

A espectroscopia vibracional pode contribuir para o conhecimento das características estruturais destes compostos do ponto de vista molecular, extremamente relevante na compreensão da relação estrutura-actividade que determina os seus efeitos bioquímicos. De facto, as diferentes formas pseudopolimórficas destes sistemas apresentam diferentes interacções intermoleculares, na maioria dos casos ligações de hidrogénio fortes, que se reflectem diferenciadamente no espectro vibracional, através de alterações de frequência, intensidade e perfis de algumas bandas.

Embora uma atribuição completa dos espectros vibracionais das metil-xantinas ainda não tenha sido estabelecida, a sua análise tem despertado um interesse considerável na comunidade científica^{17,22,23,37-43}. Muito recentemente, em alguns trabalhos publicados sobre o assunto^{17,22,23,40-42}, verificou-se a existência de atribuições questionáveis e mesmo erróneas, conforme verificado por *Ribeiro-Claro*⁴³. Neste contexto, uma atribuição completa e de confiança dos espectros vibracionais das formas anidras e hidratadas da TP, TB e CA é naturalmente justificada⁴⁴.

IV.2 – Resultados e discussão

IV.2.1 – Seleção de pares moleculares representativos das estruturas cristalinas

As estruturas cristalinas^{32-36,45-47} das metil-xantinas consideradas neste estudo apresentam extensas redes de ligações de hidrogénio, as quais são esperadas que exerçam um efeito significativo nos correspondentes espectros vibracionais. A aplicação da metodologia descrita anteriormente exige a realização de cálculos *ab initio* para os pares moleculares que simulam as várias associações moleculares observadas na estrutura cristalina. No caso da TP e CA, são consideradas as estruturas cristalinas das formas hidratadas de ambas (referidas como TPh e CAh, respectivamente) e da forma anidra da TP (referida como TPa), enquanto que no caso da TB, por não apresentar forma hidratada, é considerada apenas a estrutura cristalina da forma anidra (referida como TBa). A estrutura cristalina da forma anidra da CA (conhecida por existir em duas formas polimórficas diferentes, designadas por formas α e β ⁴⁸) ainda não foi resolvida, uma vez que são obtidos apenas pós e cristais desordenados⁴⁹.

Na Figura IV.2 são apresentadas apenas as ligações de hidrogénio intermoleculares consideradas como mais importantes no empacotamento cristalino dos sistemas em estudo.

Cada interacção é descrita por um dos pares moleculares I-X indicados na Figura IV.2 (por exemplo, o par molecular I é constituído por duas moléculas de TP interconectadas por ligações de hidrogénio $N_{(7)} - H \cdots N_{(9)}$).

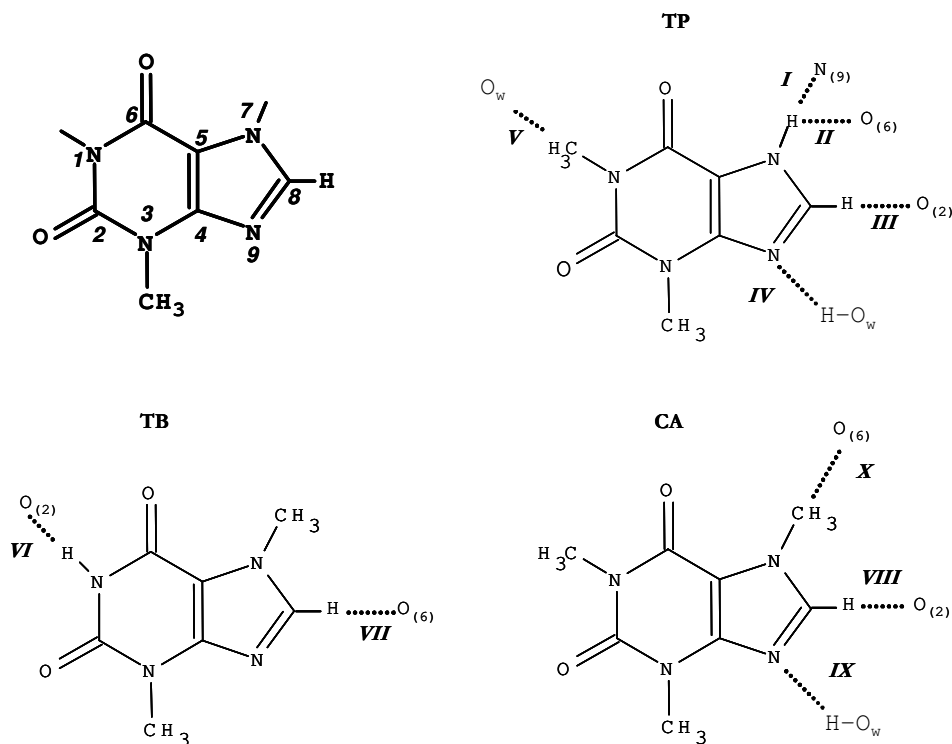


Figura IV.2 – Numeração dos átomos e representação esquemática dos pares moleculares estabelecidos por relevantes contactos intermoleculares observados nas estruturas cristalinas retiradas da Base de Dados de Cambridge (códigos de referência indicados): par I (teofilina anidra, BAPLOT01³³), pares II-V (teofilina hidratada, THEOPH/THEOPH01)³⁵, pares VI e VII (teobromina anidra, SEDNAQ³²), pares VII-X (cafeína hidratada, CAFINE/CAFINE01³⁶). A notação O_w indica os átomos de oxigénio da molécula de água.

Das várias metil-xantinas consideradas, a TP é a única para a qual as estruturas cristalinas de ambas as formas, anidra e hidratada, são conhecidas. Deste modo, a TP pode ser considerada como o melhor modelo para demonstrar a aplicação da metodologia PiMM desenvolvida neste Capítulo. Assim sendo, a análise do empacotamento das estruturas cristalinas das formas TPa e TPh e os cálculos *ab initio* necessários para descrever os contactos intermoleculares presentes em cada caso, serão discutidos mais detalhadamente.

IV.2.1.1 – Teofilina

As estruturas cristalinas da TPa e TPh evidenciam que todos os grupos, à excepção do grupo metilo da posição $N_{(3)}$, estão envolvidos em ligações de hidrogénio intermoleculares,

embora se verifiquem diferenças significativas entre os pares doador/aceitador para cada uma das formas. Uma situação característica na estrutura cristalina da TPh é a existência de camadas amontoadas de estruturas diméricas de moléculas de TP, relacionadas por um centro de simetria, que são mantidas juntas pelo estabelecimento de dois tipos de interações $TP \cdots TP$, nomeadamente, ligações de hidrogénio $N_{(7)} - H \cdots O_{(6)}$ e $C_{(8)} - H \cdots O_{(2)}$ (cada molécula de TP estabelece duas interações equivalentes de cada tipo, actuando simultaneamente como doador e aceitador da ligação de hidrogénio). Adicionalmente, cada molécula de TP estabelece dois tipos de interações $TP \cdots H_2O$ ($N_{(9)} - H \cdots O_w$ e $C_{(1)} - H \cdots O_w$), formando assim uma rede de canais que cruzam as diferentes camadas moleculares de TP. Por sua vez, a estrutura cristalina da forma anidra não apresenta camadas definidas. De facto, as moléculas de TP planares estão empilhadas em colunas, sendo o ângulo inter-planar entre moléculas de TP adjacentes de 43° . Essas colunas são mantidas juntas pelo estabelecimento de ligações de hidrogénio $N_{(7)} - H \cdots N_{(9)}$.

A Figura IV.3 apresenta as estruturas optimizadas (ver detalhes na Secção VIII.2 do Capítulo VIII) dos diferentes pares moleculares da TP que simulam as diferentes interações intermoleculares ($TP \cdots TP$ e $TP \cdots H_2O$) presentes nas estruturas cristalinas das formas TPa e TPh. Em todos os casos, a distância intermolecular da interação é calculada e indicada. Deve, no entanto, ser mencionado que a molécula TP pode ocorrer sob a forma de quatro tautómeros, nomeadamente TP ($N_{(7)}H$), TP ($N_{(9)}H$), TP ($O_{(2)}H$) e TP ($O_{(6)}H$). Contudo, resultados obtidos por raios-X demonstraram que, no estado cristalino, o tautómero TP ($N_{(7)}H$) é dominante³³. Adicionalmente, os cálculos *ab initio* estão de acordo com esta observação, uma vez que a diferença de energia entre a forma tautomérica de menor energia, TP ($N_{(7)}H$), e a segunda forma mais estável, TP ($N_{(9)}H$), é superior a 38 kJ mol^{-1} . Deste modo, todos os pares moleculares da Figura IV.3 foram construídos com a forma tautomérica TP ($N_{(7)}H$).

O par molecular I representa os contactos intermoleculares característicos da forma TPa (as formas diméricas são estabelecidas por interações $N_{(7)} - H \cdots N_{(9)}$), enquanto que os pares moleculares II, III, IV e V representam as quatro diferentes associações moleculares que são evidenciadas na estrutura cristalina da TPh (associações moleculares estabelecidas por interações $N_{(7)} - H \cdots O_{(6)}$ e $C_{(8)} - H \cdots O_{(2)}$, $N_{(9)} - H \cdots O_w$ e $C_{(1)} - H \cdots O_w$). O par molecular II, que apresenta duas interações fortes $N_{(7)} - H \cdots O_{(6)}$, corresponde ao mínimo de menor energia. A distância $N - H \cdots O$ prevista é de 177 pm, verificando-se uma boa concordância

com o valor de 190 pm obtido por raios-X³⁵, tendo em consideração a distinta natureza dos dois métodos. O par molecular III, estabelecido por uma interacção intermolecular fraca, $C_{(8)}-H\cdots O_{(2)}$, corresponde ao dímero $TP\cdots TP$ menos estável. Apesar do carácter fraco, e como já referido no Capítulo I, as ligações $C-H\cdots O$ desempenham um papel importante no empacotamento cristalino e provocam efeitos significativos nos espectros vibracionais de sistemas moleculares^{2,4,5}.

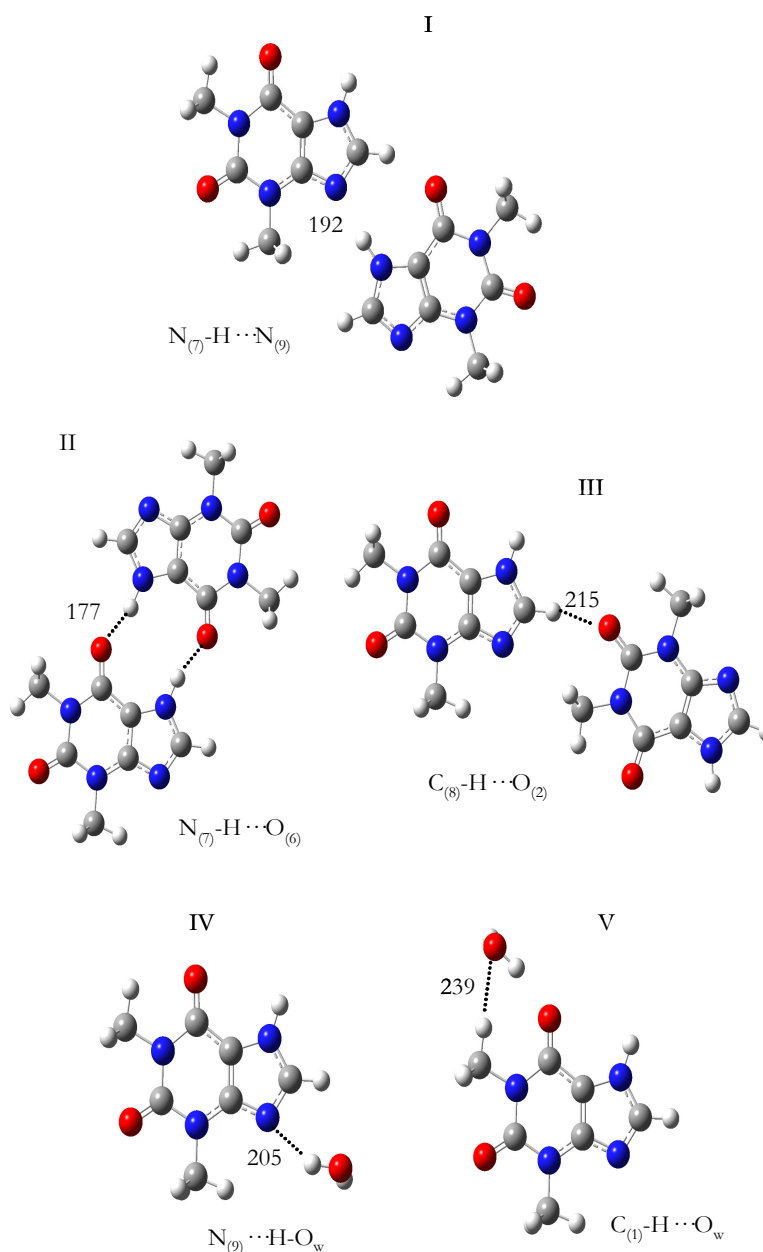


Figura IV.3 – Estruturas optimizadas dos pares moleculares seleccionados para descrever os contactos intermoleculares observados nas estruturas cristalinas da teofilina anidra (TPa, par I) e teofilina hidratada (TPh, pares II-V). As distâncias $H\cdots N$ e $H\cdots O$ calculadas estão também incluídas (em pm).

A Tabela IV.1 apresenta as frequências previstas por cálculos *ab initio* para o monómero TP e os desvios promovidos pelos diferentes pares moleculares da Figura IV.3 (apenas são apresentados os modos que são significativamente afectados pelos contactos intermoleculares).

Tabela IV.1 – Frequências vibracionais (cm^{-1}), obtidas por cálculos *ab initio*, para o monómero e para os diferentes pares moleculares estabelecidos com base na estrutura cristalina da teofilina anidra (TPa) e hidratada (TPh). Apenas são apresentados os desvios superiores a 10 cm^{-1} .

Monómero	Frequências vibracionais previstas ^[a] / cm ⁻¹						Descrição aproximada ^[b]
	TPa	TPh					
	I	II	III	IV	V	Σ (II-VI)	
363	10	17	10			27	βC=O
446		14				14	α anel pyr
501	324	319		22		341	γN ₍₇₎ -H
538		16				16	“expansão” anel pyr
800	87	43	76	42		161	γC ₍₈₎ -H
1092	66	58	-10	-19	-20	9	νCC+νCN
1217	180	25	165			190	βC ₍₈₎ -H
1381	-154	-148				-148	βN ₍₇₎ -H
1538	11	13				13	νCC+νCN
1585		-15				-15	νC ₍₄₎ =C ₍₅₎
1694		-33	-14		-13	-60	νC=O
3153	-27		-14			-14	νC ₍₈₎ -H
3509	-384	-336				-336	νN ₍₇₎ -H

[a] Valores calculados ao nível B3LYP (factor de correcção=0.9614)

[b] ν =elongação; β =deformação no plano; γ =deformação fora do plano;

α =deformação do anel no plano; pyr=pirimidina

Σ =somatório

IV.2.1.2 – Teobromina e cafeína

Nas Figuras IV.4 e IV.5 encontram-se representados os pares moleculares que caracterizam, respectivamente, as estruturas moleculares da TBa e da CAh.

Uma característica interessante da estrutura cristalina da TBa³² é a associação de moléculas de TB como uma estrutura pseudocentrossimétrica estabelecida com duas ligações de hidrogénio intermoleculares $N_{(1)}-H\cdots O_{(2)}$ (par molecular VI da Figura IV.4). Estes pares moleculares são mantidos juntos através de ligações de hidrogénio fracas $C_{(8)}-H\cdots O_{(6)}$ entre moléculas adjacentes (par molecular VII da Figura IV.4), formando-se assim uma estrutura em camadas bi-dimensional.

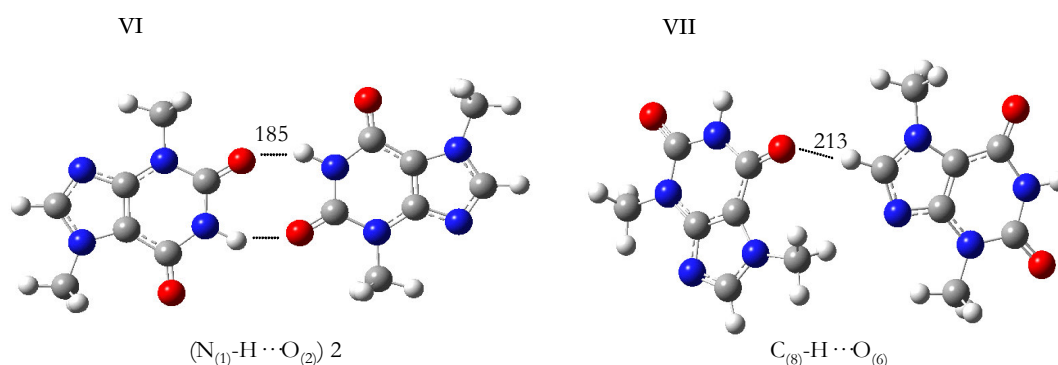


Figura IV.4 – Estruturas optimizadas dos pares moleculares seleccionados para descrever os contactos intermoleculares observados na estrutura cristalina da teobromina anidra (TBa). As distâncias $H\cdots O$ calculadas estão também incluídas (em pm).

A estrutura cristalina da CAh foi determinada em 1958 por *Sutor*³⁶ e confirmada, anos mais tarde, por *Edwards*²² e col.. Nesta estrutura, o átomo de nitrogénio do anel imidazole da molécula de CA estabelece uma ligação de hidrogénio com uma molécula de água de cristalização, (par molecular IX da Figura IV.5). As moléculas de água são desordenadas e a distância entre átomos de oxigénio da água, verificada no canal, é de apenas 2.5 Å⁴⁹.

O estabelecimento das ligações de hidrogénio fortes $N_{(9)}-H\cdots O_w$ provoca a activação dos grupos vizinhos $C_{(8)}-H$ para actuarem como doadores da ligação de hidrogénio³³. Na estrutura cristalina da CAh^{22,36}, a distância intermolecular $C_{(8)}\cdots O_{(2)}$ é de 3.1 Å e consequentemente a distância $H\cdots O_{(2)}$ é de aproximadamente 2.1 Å. Esta situação permite a existência de pares moleculares estabelecidos por ligações de hidrogénio $C_{(8)}-H\cdots O_{(2)}$ (par molecular VIII da Figura IV.5). Adicionalmente, verificam-se evidências de pares moleculares ligados por interacções $C_{(7)}-H\cdots O_{(6)}$ (representadas pelo par molecular X da Figura IV.5). Os efeitos de estabilização calculados para estas associações moleculares seguem a ordem IX > VIII > X, situação compatível com os resultados obtidos num trabalho publicado por *Carlucci*

e *Gavezotti*⁴⁹, no qual se utilizaram cálculos de nível superior. Os resultados seguem também o padrão esperado relativamente à força da interacção intermolecular, $N_{(9)}-H\cdots O_w > C_{(8)}-H\cdots O_{(2)} > C_{(7)}-H\cdots O_{(6)}$.

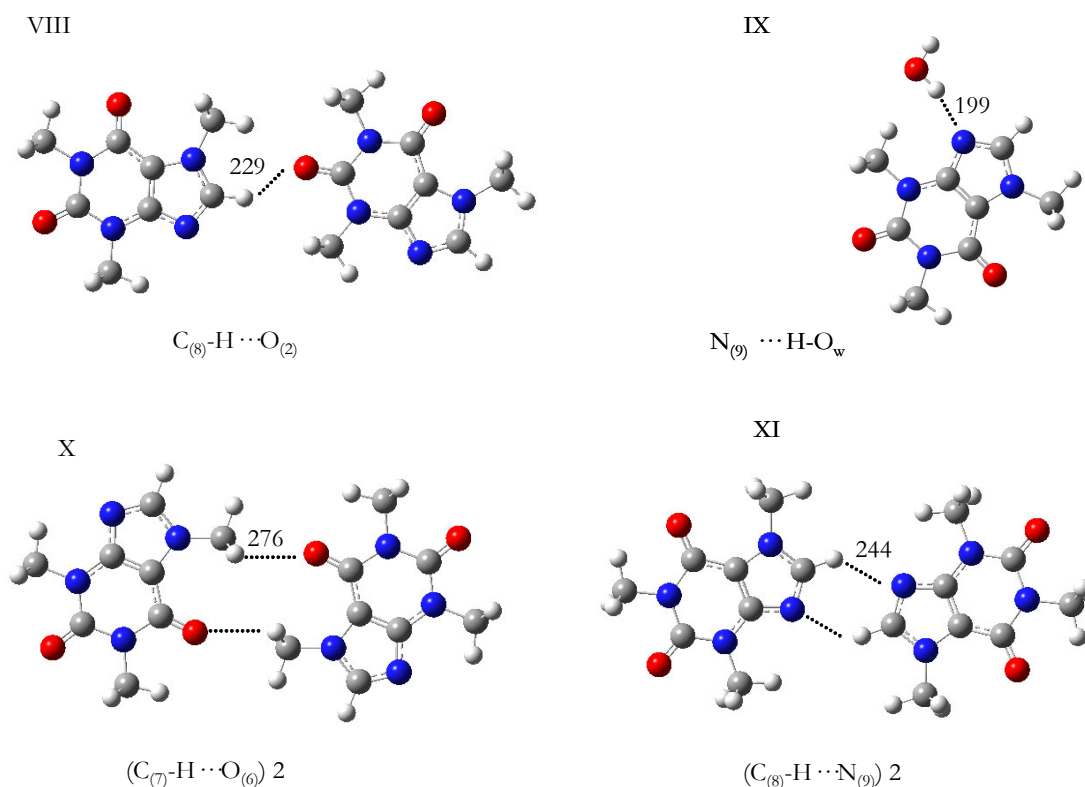


Figura IV.5 – Estruturas optimizadas dos pares moleculares seleccionados para descrever os contactos intermoleculares observados na estrutura cristalina da cafeína hidratada (CAh, pares VIII-X). Adicionalmente, para descrever um possível contacto intermolecular existente na cafeína anidra (CAa), é incluído o par molecular XI. As distâncias $H\cdots N$ e $H\cdots O$ calculadas estão também incluídas (em pm).

No caso da CAa, verifica-se que o átomo $N_{(9)}$ já não se encontra bloqueado pela molécula de água, podendo assim ser usado por outro grupo doador de ligação de hidrogénio. De maneira a obter novas informações sobre a estrutura da CAa, foram testadas várias associações moleculares estabelecidas com o átomo $N_{(9)}$ como aceitador da ligação de hidrogénio. A associação de duas moléculas de CA por ligações de hidrogénio fracas $C_{(8)}-H\cdots N_{(9)}$ (par molecular XI da Figura IV.5), devido à energia de estabilização apresentada, revelou-se interessante. Este par molecular foi já considerado, por *Carlucci* e *Gavezotti*⁴⁹, como sendo um dos mais prováveis na estrutura da CAa, embora os autores não tenham atribuído a

ligações fracas $C-H\cdots O/N$ qualquer importância como interações condutoras no estabelecimento da estrutura.

As Tabelas IV.2 e IV.3 apresentam, respectivamente, as frequências previstas por cálculos *ab initio* para o monómero TB e CA e os desvios promovidos pelos diferentes pares moleculares das Figuras IV.4 e IV.5 (apenas são apresentados os modos que são significativamente afectados pelos contactos intermoleculares).

Tabela IV.2 – Frequências vibracionais (cm^{-1}), obtidas por cálculos *ab initio*, para o monómero e para os diferentes pares moleculares estabelecidos com base na estrutura cristalina da teobromina anidra (TBa). Apenas são apresentados os desvios superiores a 10 cm^{-1} .

Monómero	Frequências vibracionais previstas ^[a] / cm^{-1}			Descrição aproximada ^[b]
	VI	VII	Σ (VI+VII)	
151	10		10	movimento “borboleta”
213		12	12	β N(7)-C(H ₃)
229		10	10	δ anel pyr
400	15		15	β C=O
685	-18		-18	γ C=O
624	251		251	γ N(1)H
802		76	76	γ C(8)H
1214		13	13	β C(8)H
1305	15		15	ν CC + ν CN
1356	71		71	β N(1)H
1475	10	13	23	δ_{as} C(3)H ₃
1486	-11	-10	-21	δ_{as} C(7)H ₃
1725	-33	-24	-57	ν C=O
1738	-10	-11	-21	ν C=O
3468	-284		-284	ν N(1)H

[a] Valores calculados ao nível B3LYP (factor de correcção=0.9614)

[b] ν =elongação; β =deformação no plano; γ =deformação fora do plano;

α =deformação do anel no plano; pyr=pirimidina

Σ =somatório

Tabela IV.3 – Frequências vibracionais (cm^{-1}), obtidas por cálculos *ab initio*, para o monómero e para os diferentes pares moleculares (VIII-X) estabelecidos com base na estrutura cristalina da cafeína hidratada (CAh). Adicionalmente, é incluído o par molecular XI como possível contacto intermolecular existente na cafeína anidra (CAa). Apenas são apresentados os desvios superiores a 10 cm^{-1} .

Monómero	Frequências vibracionais previstas ^[a] / cm^{-1}					Descrição aproximada ^[b]
	CAh				CAa	
	VIII	IX	X	Σ (VIII-X)	XI	
297		14		14		β N(3)-C(H ₃)
801	58		10	68	58	γ C(8)H
1055		11	22	11		ρ C(7)H ₃ + ν N(1)C(H ₃)
1221					12	β C(8)H
1687	-15		-10	-25		ν C=O
3143					-19	ν C(8)H

[a] Valores calculados ao nível B3LYP (factor de correcção=0.9614)

[b] ν =elongação; β =deformação no plano; γ =deformação fora do plano;

ρ =movimento de balançar dos CH₃;

Σ =somatório

IV.2.2 – Aplicação da metodologia PiMM na atribuição vibracional

Nesta secção é apresentada a atribuição completa dos espectros de FT-Raman e FT-IR da TP, TB e CA estabelecida com base nas características estruturais descritas anteriormente, nomeadamente os efeitos das interacções intermoleculares existentes em cada sistema (calculados através da equação 2).

Devido ao forte acoplamento dos osciladores verificado em alguns modos normais, a descrição aproximada dos modos vibracionais (apresentada seguidamente) é feita com base na maior contribuição para cada modo vibracional. Em alguns casos, a natureza híbrida inevitável do modo vibracional é indicada na descrição aproximada com um sinal de somatório (por exemplo, ν CC + ν CN).

IV.2.2.1 – Teofilina

No caso da TP, a aplicação da equação 2 é estabelecida para os modos indicados na Tabela IV.1, dado que a frequência vibracional para cada modo normal é obtida pela simples adição do desvio previsto ao valor calculado para o monómero. Por exemplo, considerando o

modo $\beta\text{C}=\text{O}$ (primeira linha da Tabela IV.1), a sua frequência vibracional prevista é de $363+10=373\text{ cm}^{-1}$ para a TPa e $363+27=390\text{ cm}^{-1}$ para a TPh. Assim sendo, este modo é atribuído a bandas observadas a 377 cm^{-1} e 388 cm^{-1} no espectro de Raman da TPa e TPh, respectivamente. O mesmo procedimento foi aplicado aos restantes modos, que apresentaram menores desvios pelo que não se encontram representados na Tabela IV.1.

Na Figura IV.6 é estabelecida a comparação, na região compreendida entre $1000\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$, entre os espectros experimentais (FT-Raman) e teóricos (com intensidades de Raman) da TPa e TPh. Os espectros teóricos foram simulados para a molécula de TP isolada e para os diferentes pares moleculares considerados.

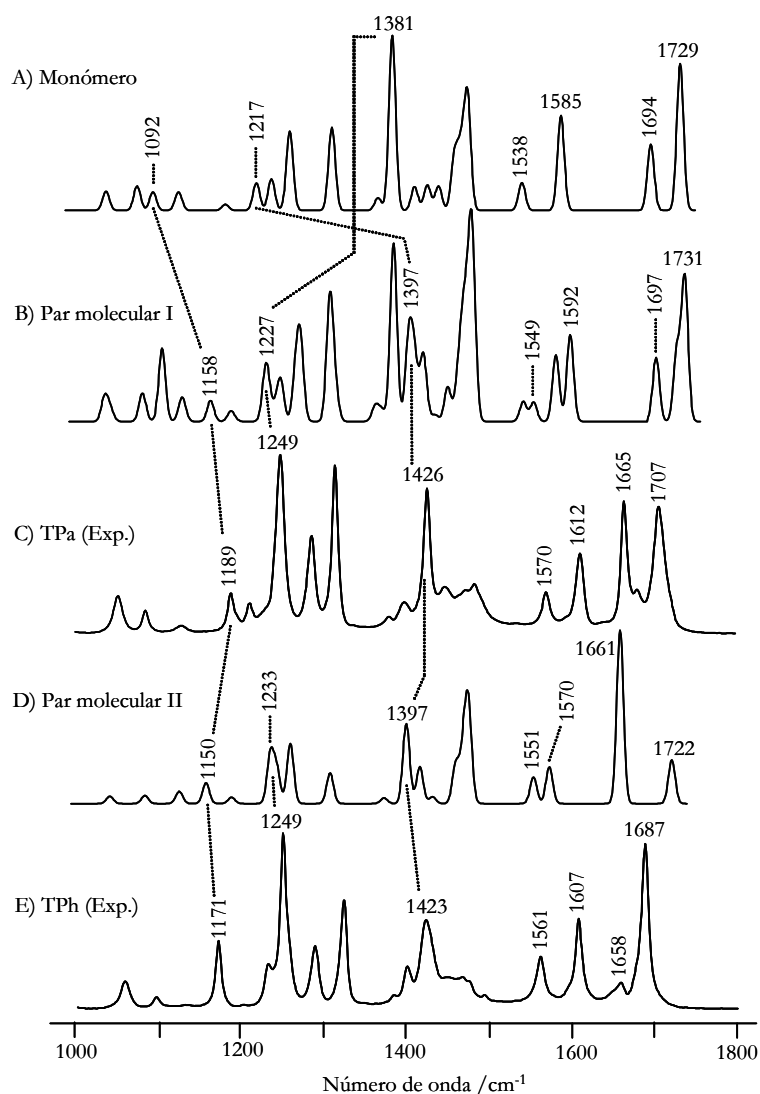


Figura IV.6 – Exemplo da aplicação da metodologia com a teofilina anidra (TPa) e hidratada (TPh). Espectros de Raman calculados (A, B e D) e experimentais (C e E) na região $1000\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ do monómero TP (A), do par molecular I (B), TPa (C), par molecular II (D) e TPh (E).

A Figura anterior ilustra bem a aplicação da metodologia PiMM na atribuição dos espectros vibracionais, dado que a região $1000\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ é particularmente sensível às diferenças estruturais entre a TPa e TPh.

Pela análise da Figura IV.6, verificam-se algumas alterações espectrais quando se compara o espectro simulado para a situação de molécula isolada (A) com os espectros simulados para os pares moleculares I e II (B e D, respectivamente). Considerando a informação apresentada na Tabela IV.1, os modos vibracionais mais sensíveis presentes na região $1000\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ são o $\nu\text{C}=\text{O}$, $\nu\text{C}_{(4)}=\text{C}_{(5)}$, $\nu\text{CC} + \nu\text{CN}$, $\beta\text{C}_{(8)}\text{H}$ e $\beta\text{N}_{(7)}\text{H}$. As bandas de elongação do grupo carbonilo, previstas pelo monómero a 1694 cm^{-1} e 1729 cm^{-1} não são significativamente afectadas no par molecular I (B) mas são claramente desviadas para menores frequências, 1661 cm^{-1} e 1722 cm^{-1} , no par molecular II (D). Este desvio nos modos de elongação do carbonilo para menores frequências verificado no par molecular II é explicado pela presença de ligações de hidrogénio fortes, $\text{N}_{(7)}-\text{H}\cdots\text{O}_{(6)}$, envolvendo o grupo carbonilo $\text{C}_{(6)}=\text{O}$ como aceitador da ligação de hidrogénio. O par molecular III (não incluído na Figura IV.6), também apresenta desvios, para menores frequências (1680 cm^{-1} e 1726 cm^{-1}), nos modos de elongação do carbonilo devido à presença de ligações de hidrogénio fracas $\text{C}_{(8)}-\text{H}\cdots\text{O}_{(2)}$. Com base nestes resultados, os modos de elongação dos dois carbonilos da TPh podem ser atribuídos ao par $1658\text{-}1687\text{ cm}^{-1}$ (E), enquanto que os correspondentes modos na TPa são atribuídos ao par $1665\text{-}1707\text{ cm}^{-1}$ (C), valores relativamente afastados dos valores previstos para o monómero. Este constitui um dos raros casos no qual as limitações da metodologia aplicada se tornam evidentes: os modos $\nu\text{C}=\text{O}$ na TPa parecem ser afectados por interacções de longo alcance não incluídos na equação 2.

Os modos de deformação no plano dos grupos $\text{N}_{(7)}\text{H}$ e $\text{C}_{(8)}\text{H}$ ($\beta\text{N}_{(7)}\text{H}$ e $\beta\text{C}_{(8)}\text{H}$, respectivamente) são previstos ocorrerem no monómero (A) a 1381 cm^{-1} e 1217 cm^{-1} , respectivamente. Contudo, a formação de interacções intermoleculares $\text{N}_{(7)}-\text{H}\cdots\text{N}_{(9)}$ (par molecular I) e $\text{N}_{(7)}-\text{H}\cdots\text{O}_{(6)}$ (par molecular II) desviam os modos $\beta\text{N}_{(7)}\text{H}$ e $\beta\text{C}_{(8)}\text{H}$ para menores e maiores frequências, respectivamente. O modo $\beta\text{N}_{(7)}\text{H}$ é desviado para menores frequências como consequência directa da formação de interacções $\text{N}_{(7)}-\text{H}\cdots\text{N}_{(9)}$ ou $\text{N}_{(7)}-\text{H}\cdots\text{O}_{(6)}$, enquanto que o desvio para maiores frequências previsto no modo $\beta\text{C}_{(8)}\text{H}$ é uma consequência indirecta dessas interacções (constitui um exemplo dos efeitos indirectos da presença de interacções intermoleculares, como descrito na equação 2). Adicionalmente, no

par molecular III (não incluído na Figura IV.6), o modo $\beta C_{(8)}H$ é também desviado para maiores frequências, quase com a mesma extensão, devido à formação de ligações de hidrogénio fracas $C_{(8)}-H\cdots O_{(2)}$. Com base nestes resultados, a banda observada experimentalmente a 1249 cm^{-1} nos espectros de Raman de ambas as formas TPa e TPh (C e E, respectivamente) pode ser atribuída ao modo $\beta N_{(7)}H$. Por outro lado, o modo $\beta C_{(8)}H$ é observado a 1426 cm^{-1} na forma TPa (C) e é desviado para 1423 cm^{-1} com a formação do hidrato (E).

A comparação dos espectros de Raman obtidos experimentalmente para ambas as formas, TPa e TPh (C e E), demonstra que as bandas situadas a 1612 cm^{-1} ($\nu C_{(4)}=C_{(5)}$) e 1570 cm^{-1} ($\nu CC + \nu CN$) são desviadas para 1607 cm^{-1} e 1561 cm^{-1} , respectivamente, com a formação do hidrato.

A substituição isotópica é um auxiliar precioso na atribuição do espectro vibracional, uma vez que permite a identificação de modos vibracionais específicos. No caso da TP, a substituição isotópica H/D do grupo N-H pode ser efectuada por contacto com D_2O .

Os cálculos *ab initio* efectuados demonstraram que, para além dos três modos associados ao grupo N-H (νNH , βNH e γNH), existem outros modos que implicam o movimento do átomo de hidrogénio do grupo $N_{(7)}$ e que são também significativamente afectados pela troca H/D.

Os espectros vibracionais FT-IR da TPa, TPh e da TPh_d (TP hidratada deuterada, ver detalhes na Secção VIII.1.2 do Capítulo VIII) nas regiões compreendidas entre $500\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ e $2000\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ encontram-se representados na Figura IV.7.

A comparação dos vários espectros FT-IR (Figura IV.7) mostra a presença de uma banda larga a aproximadamente 846 cm^{-1} (TPa, A), desviada para 818 cm^{-1} durante a hidratação (TPh, B) e que praticamente desaparece durante a cristalização em D_2O , sendo desviada para 593 cm^{-1} (TPh_d, C). Estas bandas são claramente atribuídas ao modo de deformação fora do plano do grupo $N_{(7)}H$ ($\gamma N_{(7)}H$). O desvio vibracional observado quando se compara a TPa com TPh sugere que as ligações de hidrogénio $N_{(7)}-H\cdots N_{(9)}$ existentes na TPa são mais fortes que as ligações $N_{(7)}-H\cdots O_{(6)}$ observadas na TPh.

A análise do espectro de infravermelho na região $2000\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ é, de certa forma, limitada pelas bandas fortes e largas atribuídas aos modos de elongação O-H e O-D da H_2O e D_2O e também a efeitos de ressonância de Fermi. O espectro FT-IR da TPh (B) evidencia a

presença de uma banda bem definida a aproximadamente 3139 cm^{-1} , ausente no espectro da TPh_d (C). Por sua vez, o espectro da TPh_d mostra uma nova banda a 2495 cm^{-1} , dentro da série de desvios previstos por substituição isotópica. Consequentemente, é razoável atribuir estas duas bandas a modos de elongação dos grupos N₍₇₎H e N₍₇₎D, respectivamente. Este modo vibracional ($\nu\text{N}_{(7)}\text{H}$) é observado a 3061 cm^{-1} no espectro FT-IR da TPa (A).

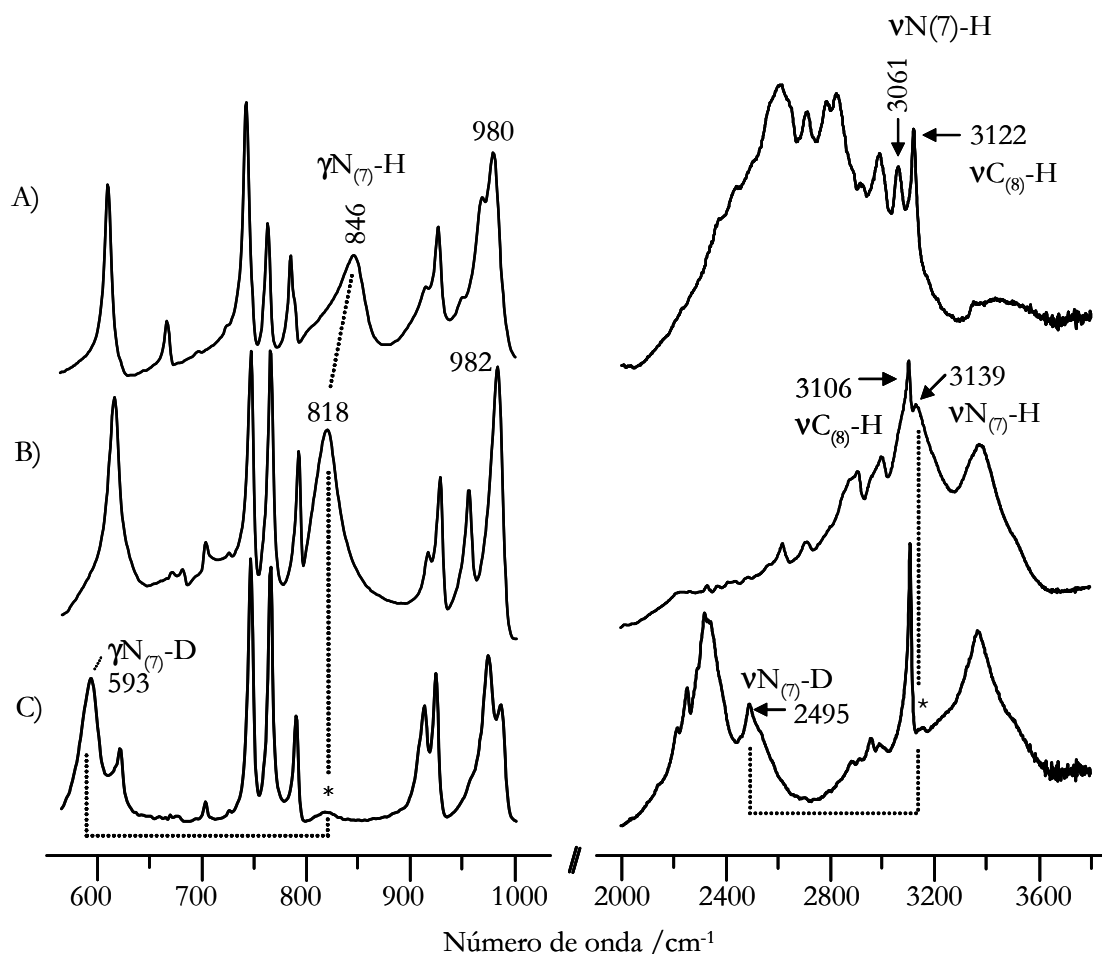


Figura IV.7 – Espectros de FT-IR da teofilina anidra (TPa, A), hidratada (TPh, B) e hidratada deuterada (TPh_d, C) nas regiões $500\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ e $2000\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$, com atribuições baseadas em desvios isotópicos. Os asteriscos incluídos no espectro C indicam a presença residual de TPh não-deuterada.

A Figura IV.7 ilustra também os efeitos das interações intermoleculares nos modos directamente envolvidos nos contactos intermoleculares, sendo particularmente evidente nos modos relacionados com o grupo C₍₈₎H, envolvido em ligações de hidrogénio $\text{C}-\text{H}\cdots\text{O}$ na TPh. De acordo com os cálculos de frequência vibracional, é razoável atribuir o modo de elongação C₍₈₎H ($\nu\text{C}_{(8)}\text{H}$) às bandas observadas a 3106 cm^{-1} e 3122 cm^{-1} nos espectros FT-IR

da TPh e TPa, respectivamente. Esta situação indica um *desvio para o vermelho* (desvio para menores frequências), característico de doadores C-H fortes⁵⁰.

Pela análise dos modos vibracionais (ver Tabela IV.1), é previsto que o modo de deformação fora do plano do grupo C₍₈₎H (γ C₍₈₎H) ocorra, na TPh, aproximadamente 160 cm⁻¹ acima dos 800 cm⁻¹ previstos para o monómero. A banda forte observada a 980 cm⁻¹, no espectro FT-IR da TPh, numa região na qual todas as restantes bandas podem ser razoavelmente atribuídas a outros modos vibracionais, é uma forte candidata para o modo γ C₍₈₎H. Relativamente à TPa, o mesmo modo vibracional é previsto ocorrer a uma frequência relativamente inferior (aproximadamente 800+87 cm⁻¹, Tabela IV.1). No entanto, verifica-se que ocorre a uma frequência quase igual à verificada na TPh. Este facto pode ser visto como o limite de erro do método. No entanto, verifica-se uma boa concordância qualitativa, na medida em que o modo γ C₍₈₎H é significativamente desviado para maiores frequências na TPa e TPh, em relação ao valor calculado para o monómero.

A conjugação de todos os resultados obtidos permitiu estabelecer uma atribuição completa dos espectros de FT-IR e FT-Raman da TPa e TPh (Tabela IV.4). A intensidade das bandas é descrita pela seguinte convenção: vs – muito forte, s – forte, m – média, w – fraca, vw – muito fraca e sh – ombro. Para além dos modos fundamentais esperados, verificou-se a presença, no espectro vibracional, de uma pequena contaminação com um polimorfo metastável da teofilina (TPm). Este assunto será discutido com mais detalhe no Capítulo V.

Tabela IV.4 – Atribuição completa dos espectros vibracionais FT-Raman e FT-IR da teofilina anidra (TPa) e hidratada (TPh) estabelecida com recurso à metodologia-assistida computacionalmente - PiMM.

TPa			TPh			Descrição aproximada ^[b]
Calc ^[a]	FT-Raman	FT-IR	Calc ^[a]	FT-Raman	FT-IR	
112	117 (m)	173	τ C ₍₁₎ H ₃
129	132 (sh)	116	γ N ₍₁₎ -CH ₃
150	164 (w)	167	179 (w)	movimento “borboleta”
193	211 (m)	191	192 (m)	ζ pyr
293	305 (w)	293	294 (w)	ζ pyr + β N ₍₃₎ -CH ₃
319	326 (vw)	350	328 (vw)	β N ₍₁₎ -CH ₃
346	363 (w)	363 (vw)	368	369 (w)	369 (vw)	ζ pyr

373	377 (sh)	377 (w)	390	388 (w)	390 (w)	$\beta\text{C}=\text{O}$
419	420 (m)	437	420 (m)	$\beta\text{C}=\text{O}$
446	447 (m)	445 (m)	460	453 (m)	455 (m)	α pyr
501	504 (m)	503 (s)	503	502 (s)	499 (s)	α pyr
538	555 (s)	554	572 (s)	“expansão” anel pyr
	578 (sh)	TP _m
591	612 (w)	611 (s)	605	614 (w)	615 (s)	ζ imid
656	668 (m)	668 (w)	674	673 (m)	675 (vw)	α pyr
	676 (sh)	TP _m
672	698 (w)	697 (vw)	674	702 (w)	702 (w)	$\gamma\text{C}=\text{O}$
709	743 (vw)	742 (s)	709	747 (vw)	746 (s)	ζ imid
717	765 (w)	763 (m)	711	765 (w)	765 (s)	$\gamma\text{C}=\text{O}$
773	786 (w)	785 (m)	772	790 (w)	792 (m)	$\nu\text{CC} + \nu\text{CN}$
	789 (sh)	789 (sh)		TP _m
825	850 (vw)	846 (s)	842	818 (s)	$\gamma\text{N}_{(7)}\text{-H}$
	915 (sh)	TP _m
908	928 (m)	908	918 (s)	α imid
944	950 (w)	950 (vw)	946	955 (m)	α imid
971	970 (m)	970 (sh)	975	962 (m)	$\rho\text{C}_{(1)}\text{H}_3(\text{ip})$
887	982 (sh)	980 (s)	961	986 (w)	982 (s)	$\gamma\text{C}_{(8)}\text{-H}$
1036	1052 (m)	1049 (w)	1039	1058 (m)	1056 (w)	$\nu\text{N}_{(3)}\text{-CH}_3$
1076	1085 (w)	1085 (vw)	1143	1096 (w)	1092 (w)	$\nu\text{N}_{(1)}\text{-CH}_3$
	1094 (sh)	1095 (sh)		TP _m
1126	1130 (w)	1126 (vw)	1126	1133 (vw)	1130 (vw)	$\rho\text{C}_{(3,1)}\text{H}_3(\text{oop})$
	1170 (sh)	TP _m
1158	1189 (m)	1188 (s)	1101	1171 (m)	1165 (m)	$\nu\text{CC}+\nu\text{NC}$
1185	1195 (sh)	1187	1199 (s)	$\rho\text{C}_{(3)}\text{H}_3(\text{ip})$
1236	1212 (w)	1247	1231 (sh)	$\nu\text{CC}+\nu\text{NC}$
	1225 (sh)	TP _m

1227	1249 (s)	1242 (m)	1233	1249 (s)	1245 (s)	$\beta_{N(7)}\text{-H}$
.....	1249 (sh)	TP _m
1260	1287 (m)	1284 (m)	1258	1288 (m)	1287 (m)	vCC+vNC
1309	1315 (s)	1314 (m)	1309	1322 (s)	1321 (m)	vCC+vNC
	1319 (sh)	TP _m
1364	1399 (w)	1397 (vw)	1377	1399 (w)	1397 (vw)	“expansão” anel imid
1397	1426 (s)	1425 (w)	1407	1423 (s)	1420 (s)	$\beta_{C(8)}\text{-H}$
1445	1448 (w)	1446 (s)	1460	1448 (vw)	1445 (s)	vCC+vCN
1457	1464 (vw)	1468 (vw)	1464	1465 (vw)	1461 (vw)	$\delta_{as}C_{(3,1)}H_3$
1477	1484 (m)	1484 (s)	1470	1494 (vw)	1492 (vw)	$\delta_{as}C_{(3)}H_3$
1549	1570 (m)	1565 (m)	1560	1561 (m)	1556 (m)	vCC+vCN
1585	1612 (m)	1608 (w)	1571	1607 (m)	1606 (sh)	vC ₍₄₎ =C ₍₅₎
1697	1665 (s)	1665 (s)	1634	1658 (w)	1665 (s)	vC=O
	1681 (sh)	1678 (sh)	TP _m
1728	1707 (s)	1713 (m)	1718	1687 (s)	1692 (sh)	vC=O
2964	2968 (s)	2966	2962 (s)	2967 (s)	v _s C _(1,3) H ₃
3074	3032 (vw)	3074	3010 (vw)	3003 (w)	v _{as} C _(1,3) H ₃
3126	3123 (s)	3122 (s)	3139	3109 (vs)	3106 (vs)	vC _{(8)}\text{-H}}
3125	3061 (w)	3173	3139 (w)	vN _{(7)}\text{-H}}
		3377 (vw)	3379 (s)	v _s OH (H ₂ O)

[a] Valores calculados ao nível B3LYP e usando a equação 2 (monômero+desvios previstos);

[b] v = alongação; β = deformação no plano; γ = deformação fora do plano;

α = deformação do anel no plano; ζ = deformação do anel fora do plano;

δ = deformação dos CH₃; ρ = movimento de balançar dos CH₃; τ = movimento de torção dos CH₃;

pyr = anel da pirimidina; imid = anel imidazole; ip = no plano; oop = fora do plano;

s = simétrica; as = assimétrica;

TPm = pequena contaminação com um polimorfo metastável da teofilina (TPm)

IV.2.2.2 – Teobromina e cafeína

Os valores de frequências experimentais e correspondentes atribuições vibracionais da TBa, CAa e CAh estão representados na Tabela IV.5 e IV.6, respectivamente.

Tabela IV.5 – Atribuição completa dos espectros vibracionais FT-Raman e FT-IR da teobromina anidra (TBa) estabelecida com recurso à metodologia-assistida computacionalmente - PiMM.

Calc ^[a]	FT-Raman	FT-IR	Descrição aproximada ^[b]
123	117 (m)	$\gamma_{N(7)}\text{-C(H}_3\text{)}$
161	169 (w)	movimento “borboleta”
209	188 (sh)	ζ pyr
225	225 (w)	β $N(7)\text{-CH}_3$
239	256 (vw)	ζ pyr
313	321 (w)	$\beta_{N(3)}\text{-CH}_3$
370	375 (m)	373 (m)	ζ pyr + $\beta\text{C=O}$
415	415 (w)	420 (m)	$\beta\text{C=O}$
460	460 (m)	456 (s)	α pyr
496	509 (m)	507 (s)	α pyr
591	621 (vs)	615 (s)	“expansão” anel pyr + ζ imid
665	675 (w)	680 (s)	α pyr
667	696 (w)	691 (sh)	$\gamma\text{C=O}$
705	734 (m)	732 (s)	$\nu\text{CC}+\nu\text{CN}$
713	751 (vw)	751 (s)	$\gamma\text{C=O}$
723	766 (vw)	763 (s)	ζ imid
764	778 (m)	783 (m)	α imid
876	862 (vs)	$\gamma_{N(1)}\text{-H}$
876	888 (w)	888 (m)	$\gamma_{C(8)}\text{-H}$
926	946 (m)	940 (m)	α imid
1025	1040 (m)	1040 (w)	$\nu_{N(3)}\text{-CH}_3$
1056	1072 (w)	1071 (w)	$\rho_{C(7)}\text{H}_3(\text{ip})$

1122	1138 (m)	1140 (m)	$\nu_{\text{CC}} + \nu_{\text{CN}} + \rho_{\text{C}_{(7,3)}\text{H}_3(\text{oop})}$
1160	1177 (m)	1172 (w)	$\nu_{\text{CC}} + \nu_{\text{CN}}$
1200	1208 (sh)	1204 (sh)	$\rho_{\text{C}_{(3)}\text{H}_3(\text{ip})}$
1227	1226 (s)	1225 (s)	$\beta_{\text{C}_{(8)}\text{-H}}$
1275	1298 (s)	1294 (m)	$\nu_{\text{CC}} + \nu_{\text{CN}}$
1320	1334 (vs)	1334 (w)	$\nu_{\text{CC}} + \nu_{\text{CN}}$
1346	1363 (w)	1365 (m)	$\nu_{\text{N}_{(7)}\text{-CH}_3}$
1379	1394 (s)	1392 (vw)	“expansão” anel imid
1426	1411 (w)	1410 (w)	$\beta_{\text{N}_{(1)}\text{-H}}$
1422	1426 (s)	1424 (w)	$\delta_{\text{sC}_{(7,3)}\text{H}_3}$
1450	1455 (m)	1455 (m)	$\delta_{\text{asC}_{(7)}\text{H}_3} + \nu_{\text{CC}} + \nu_{\text{CN}} + \delta_{\text{asC}_{(3)}\text{H}_3}$
1498	1480 (vw)	1480 (sh)	$\delta_{\text{asC}_{(3)}\text{H}_3}$
1465	1489 (m)	1486 (s)	$\delta_{\text{asC}_{(7)}\text{H}_3}$
1534	1552 (s)	1548 (s)	$\nu_{\text{CC}} + \nu_{\text{CN}}$
1572	1594 (s)	1592 (m)	$\nu_{\text{C}_{(4)=\text{C}_{(5)}}$
1668	1685 (s)	1690 (s)	$\nu_{\text{C=O}}$
1717	1708 (vw)	1710 (sh)	$\nu_{\text{C=O}}$
2966	2956 (s)	2951 (vw)	$\nu_{\text{sC}_{(7,3)}\text{H}_3}$
3023	3002 (m)	3001 (sh)	$\nu_{\text{asC}_{(3)}\text{H}_3}$
3040	3025 (w)	3025 (s)	$\nu_{\text{asC}_{(7)}\text{H}_3}$
3073	3037 (sh)	3040 (sh)	$\nu_{\text{asC}_{(3)}\text{H}_3}$
3144	3116 (s)	3117 (m)	$\nu_{\text{C}_{(8)}\text{-H}}$
3184	3157 (vw)	3156 (w)	$\nu_{\text{N}_{(1)}\text{-H}}$

[a] Valores calculados ao nível B3LYP e usando a equação 2 (monómero+desvios previstos);

[b] ν = alongação; β = deformação no plano; γ = deformação fora do plano;

α = deformação do anel no plano; ζ = deformação do anel fora do plano;

δ = deformação dos CH_3 ; ρ = movimento de balançar dos CH_3 ; τ = movimento de torção dos CH_3 ;

pyr = anel da pirimidina; imid = anel imidazole; ip = no plano; oop = fora do plano;

s = simétrica; as = assimétrica;

Tabela IV.6 – Atribuição completa dos espectros vibracionais FT-Raman e FT-IR da cafeína anidra (CAa) e hidratada (CAh) estabelecida com recurso à metodologia-assistida computacionalmente - PiMM.

CAa			CAh			Descrição aproximada ^[b]
Calc ^[b]	FT-Raman	FT-IR	Calc ^[b]	FT-Raman	FT-IR	
124	106 (w)	120	109 (w)	$\gamma\text{N}_{(7)}\text{-CH}_3$
128	143 (w)	130	128 (w)	$\gamma\text{N}_{(1)}\text{-CH}_3$
164	164 (w)	174	168 (w)	movimento “borboleta”
212	227 (w)	222	217 (m)	$\beta\text{N}_{(7)}\text{-CH}_3$
219	235 (w)	227	238 (w)	ζ pyr
277	282 (vw)	281	292 (vw)	ζ pyr
297	315 (w)	311	319 (vw)	$\beta\text{N}_{(3)}\text{-CH}_3$
359	373 (w)	371 (w)	359	375 (m)	373 (m)	$\beta\text{N}_{(1)}\text{-CH}_3 + \zeta$ pyr
398	391 (w)	390 (m)	398	389 (m)	388 (m)	$\beta\text{C=O}$
413	425 (vw)	425 (m)	409	425 (m)	$\beta\text{C=O}$
446	445 (m)	444 (m)	453	447 (m)	444 (m)	α pyr
487	484 (m)	481 (s)	491	487 (s)	481 (s)	α pyr
536	556 (vs)	538	556 (vs)	“expansão” anel pyr
602	610 (w)	609 (s)	604	612 (w)	612 (s)	ζ imid
625	644 (m)	644 (vw)	630	647 (s)	647 (m)	α pyr
672	698 (vw)	700 (vw)	671	699 (vw)	700 (vw)	$\gamma\text{C=O}$
718	742 (m)	745 (vs)	718	744 (s)	745 (vs)	ζ imid + $\gamma\text{C=O}$
729	759 (m)	728	762 (w)	762 (s)	vCC+vCN
785	802 (m)	800 (vw)	785	805 (m)	803 (vw)	vCC+vCN
859	863 (vw)	860 (m)	869	888 (w)	888 (w)	$\gamma\text{C(8)}\text{-H}$
912	929 (m)	927 (vw)	915	929 (m)	926 (w)	α imid
961	976 (w)	974 (m)	959	978 (w)	975 (m)	α imid
1009	1023 (m)	1026 (m)	1010	1027 (m)	1026 (m)	$\rho\text{C}_{(1)}\text{H}_3(\text{ip})$
1055	1072 (m)	1070 (w)	1066	1076 (m)	1075 (w)	$\rho\text{C}_{(7)}\text{H}_3(\text{ip}) + \nu\text{N}_{(1)}\text{-CH}_3$

1114	1134 (w)	1130 (vw)	1109	1130 (w)	1130 (vw)	$\rho C_{(7,1,3)}H_3(oop)$
1181	1190 (w)	1187 (w)	1170	1192 (w)	1192 (sh)	$\rho C_{(3)}H_3(ip)$
1202	1212 (sh)	1212 (sh)	1198	1214 (sh)	1212 (sh)	$\nu N_{(3)}-CH_3$
1233	1241 (s)	1239 (s)	1221	1242 (m)	1239 (s)	$\beta C_{(8)}-H$
1238	1251 (sh)	1236	1256 (m)	1257 (sh)	$\nu CC + \nu CN$
1265	1285 (s)	1286 (m)	1260	1290 (m)	1289 (m)	$\nu CC + \nu CN$
1316	1329 (vs)	1326 (w)	1320	1333 (vs)	1329 (sh)	$\nu CC + \nu CN$
1341	1361 (s)	1358 (m)	1353	1361 (s)	1359 (s)	$\nu N_{(7)}-CH_3$
1375	1390 (sh)	1390 (sh)	1373	1392 (sh)	1391 (sh)	“expansão” anel imid
1405	1404 (m)	1401 (w)	1405	1410 (s)	1412 (m)	$\delta_s C_{(1,7)}H_3$
1425	1431 (sh)	1430 (w)	1432	1435 (sh)	1432 (w)	$\delta_s C_{(3)}H_3$
1456	1458 (m)	1456 (w)	1456	1456 (m)	1455 (m)	$\delta_{as} C_{(7,3,1)}H_3 + \nu CC + \nu CN$
1472	1469 (sh)	1472	1475 (m)	1471 (sh)	$\delta_{as} C_{(1,3)}H_3$
1488	1491 (sh)	1485 (m)	1490	1489 (m)	$\delta_{as} C_{(7)}H_3$
1532	1554 (m)	1549 (s)	1534	1553 (m)	1550 (m)	$\nu CC + \nu CN$
1578	1600 (s)	1599 (w)	1570	1606 (vs)	1602 (sh)	$\nu C_{(4)}=C_{(5)}$
1687	1656 (m)	1658 (s)	1662	1655 (w)	1658 (s)	$\nu C=O$
1722	1698 (vs)	1701 (s)	1715	1698 (vs)	1704 (m)	$\nu C=O$
2963	2959 (vs)	2955 (s)	2963	2959 (s)	2955 (m)	$\nu_s C_{(1)}H_3 + \nu_s C_{(7)}H_3 + \nu_s C_{(3)}H_3$
3026	3017 (sh)	3028	3011 (m)	3007 (vw)	$\nu_{as} C_{(1)}H_3$
3029	3035 (sh)	3031	3027 (m)	$\nu_{as} C_{(3)}H_3$
3124	3114 (s)	3111 (s)	3143	3122 (s)	3122 (s)	$\nu C_{(8)}-H$
.....	3375 (s)	$\nu_s OH (H_2O)$
.....	3392 (w)	$\nu_{as} OH (H_2O)$

[a] Valores calculados ao nível B3LYP e usando a equação 2 (monómero+desvios previstos);

[b] ν = alongação; β = deformação no plano; γ = deformação fora do plano;

α = deformação do anel no plano; ζ = deformação do anel fora do plano;

δ = deformação dos CH_3 ; ρ = movimento de balançar dos CH_3 ; τ = movimento de torção dos CH_3 ;

pyr = anel da pirimidina; imid = anel imidazole; ip = no plano; oop = fora do plano;

s = simétrica; as = assimétrica;

Como referido anteriormente (e demonstrado na Tabela IV.2), as principais interacções intermoleculares existentes na TBa são do tipo $N_{(1)}-H\cdots O_{(2)}$ e $C_{(8)}-H\cdots O_{(6)}$. Consequentemente é esperado que os modos vibracionais mais afectados sejam os relacionados com os grupos carbonilos $C_{(2)}=O$ e $C_{(6)}=O$ e com os grupos $N_{(1)}H$ e $C_{(8)}H$. De facto, de acordo com os cálculos *ab initio*, os modos $\nu C=O$ são desviados para menores frequências aquando da formação dessas interacções, sendo o efeito naturalmente maior no caso da ligação de hidrogénio forte $N_{(1)}-H\cdots O_{(2)}$ ($\Delta\nu=33\text{ cm}^{-1}$ e $\Delta\nu=24\text{ cm}^{-1}$, comparando, respectivamente, os valores obtidos para o monómero com os obtidos para o par molecular VI e VII). Por sua vez, o modo de deformação fora do plano do grupo $C=O$ ($\gamma C=O$) é previsto desviar-se, de 685 cm^{-1} (previsto para o monómero) para 667 cm^{-1} (previsto para o par molecular VI) e para 688 cm^{-1} (previsto para o par molecular VII).

Na Figura IV.8 é feita a comparação, na região $550\text{-}950\text{ cm}^{-1}$, entre o espectro de infravermelho calculado para o monómero TB (A) e os pares moleculares VI (B) e VII (C).

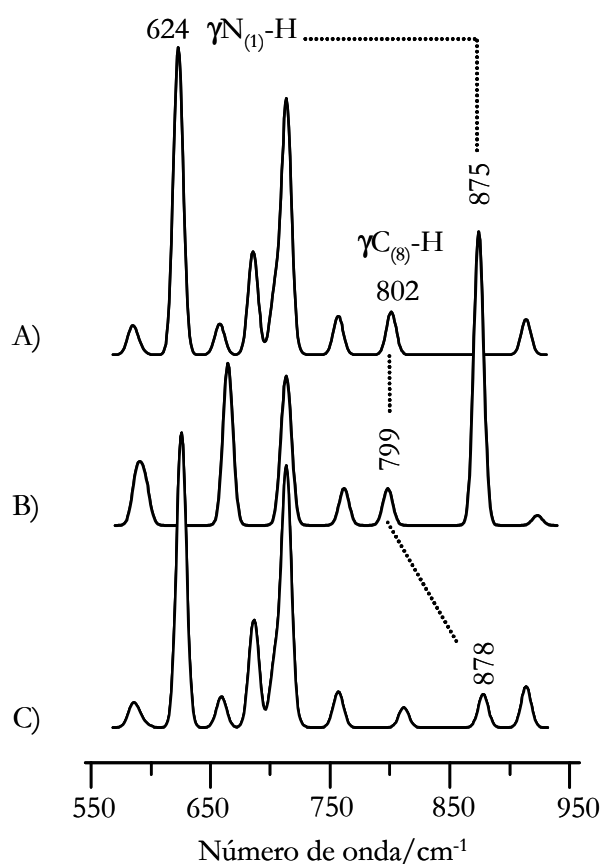


Figura IV.8 – Espectros de infravermelho, na região $550\text{-}950\text{ cm}^{-1}$, calculados para o monómero TB (A), e para os pares molecular VI (B) e VII (C).

Nesta região espectral são esperados os modos vibracionais $\gamma N_{(1)}H$ e $\gamma C_{(8)}H$. O modo $\gamma N_{(1)}H$ é previsto ocorrer a 624 cm^{-1} no monómero, sendo significativamente desviado para maiores frequências, 875 cm^{-1} , aquando do estabelecimento de ligações de hidrogénio $N_{(1)}-H\cdots O_{(2)}$ (par molecular VI). Por outro lado, o modo $\gamma C_{(8)}H$ é previsto desviar-se para maiores frequências por aproximadamente 79 cm^{-1} quando se consideram as interações fracas $C_{(8)}-H\cdots O_{(6)}$ (par molecular VII). Como ambos os tipos de interações estão presentes na estrutura cristalina da TBa, é esperado que ambos os modos $\gamma N_{(1)}H$ e $\gamma C_{(8)}H$ sejam observados na região $800\text{-}900\text{ cm}^{-1}$.

As vibrações de elongação dos grupos $C_{(8)}H$ e $N_{(1)}H$ ($\nu C_{(8)}H$ e $\nu N_{(1)}H$, respectivamente) são também afectadas pela presença de ligações de hidrogénio $N_{(1)}-H\cdots O_{(2)}$ e $C_{(8)}-H\cdots O_{(6)}$. De acordo com os cálculos *ab initio*, ambos os modos são desviados para menores frequências quando se compara o monómero com um dos pares moleculares (VI ou VII). Com base nestas informações e nos estudos de deuteração (à semelhança da TP, os estudos de deuteração foram utilizados para confirmar as bandas atribuídas aos modos N-H da TBa), o modo $\nu N_{(1)}H$ é atribuído a uma banda larga situada a 3156 cm^{-1} no espectro FT-IR, enquanto que a banda centrada a 3116 cm^{-1} no espectro de Raman é atribuída ao modo $\nu C_{(8)}H$.

Na Figura IV.9 é feita a comparação dos espectros de FT-Raman e FT-IR da TBa e TBa_d (TBa parcialmente deuturada, ver detalhes na Secção VIII.1.2 do Capítulo VIII), na região $200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$. Verifica-se, no espectro FT-IR, uma clara diminuição de intensidade da banda larga observada a 862 cm^{-1} durante o processo de deuteração parcial. Neste contexto, é razoável atribuir esta banda ao modo $\nu N_{(1)}H$. Adicionalmente, tendo por base os resultados *ab initio*, a banda a 888 cm^{-1} é atribuída ao modo $\nu C_{(8)}H$.

Deve ser mencionado que existe uma excelente concordância entre os desvios previstos na Tabela IV.2 e os efectivamente observados no espectro vibracional da TBa (ver Tabela IV.5). A única excepção verifica-se com o modo $\gamma C=O$, cuja frequência vibracional prevista é $685\text{-}15\text{ cm}^{-1}$ sendo no entanto observado a 691 cm^{-1} .

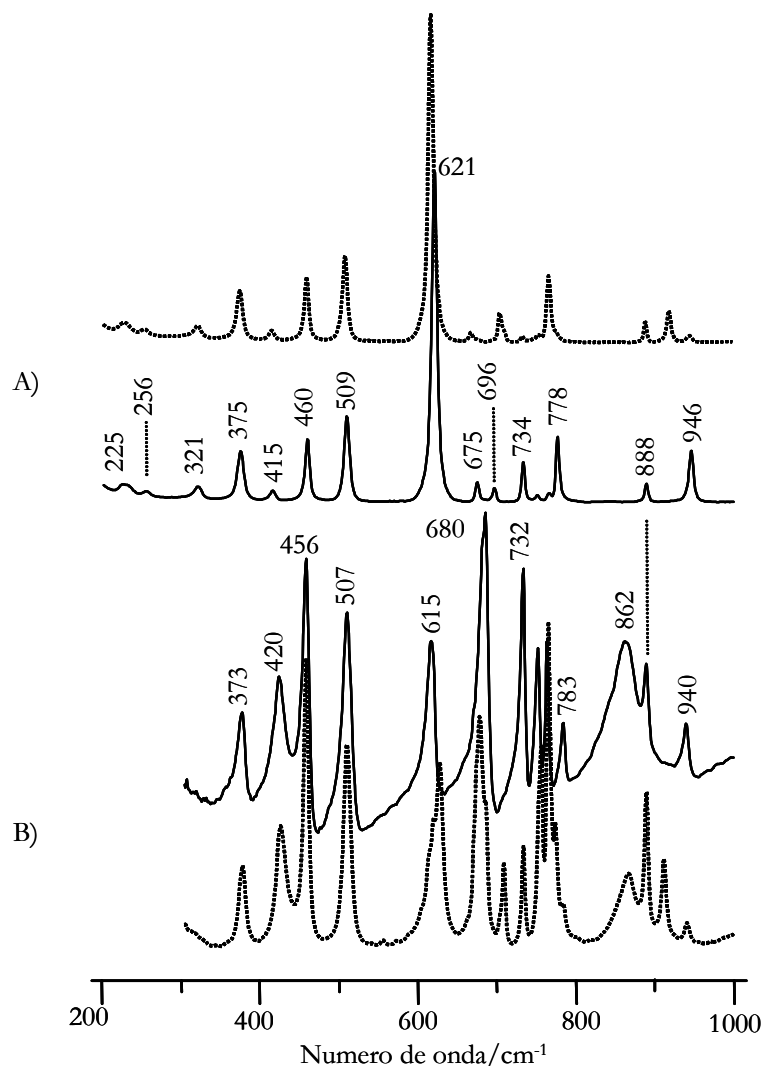


Figura IV.9 – Espectros de FT-Raman (A) e FT-IR (B) da teobromina anidra (TBa) na região 200-1000 cm^{-1} : linhas sólidas referem-se à TBa, linhas a tracejado referem-se à TBa deuterada. Algumas atribuições da TBa, estabelecidas com base nos desvios isotópicos (linhas verticais), são incluídas.

No contexto do presente trabalho, a cafeína (CA) apresenta uma particularidade. Em contraste com o que é observado com a TP, os espectros vibracionais das formas anidra e hidratada da TP (CAa e CAh, respectivamente) são bastante similares, apresentando apenas pequenas variações de intensidade e/ou de frequência em poucas bandas espectrais.

A não-sensibilidade dos espectros vibracionais em relação ao empacotamento cristalino é também prevista por cálculos *ab initio*. De facto, como demonstrado na Tabela IV.3, apenas um pequeno número de modos é afectado pelas interações intermoleculares consideradas.

A Figura IV.10 ilustra essa similaridade, pela comparação do espectro FT-IR da CAa (A) com o da CAh (B). Com pode ser visto, a região VC=O permanece praticamente

inalterada quando se passa da CAh para CAa, à excepção de um aumento de intensidade na banda a maiores frequências. Esta observação sugere que as interacções intermoleculares que envolvem os grupos carbonilo não são significativamente diferentes nas formas CAa e CAh.

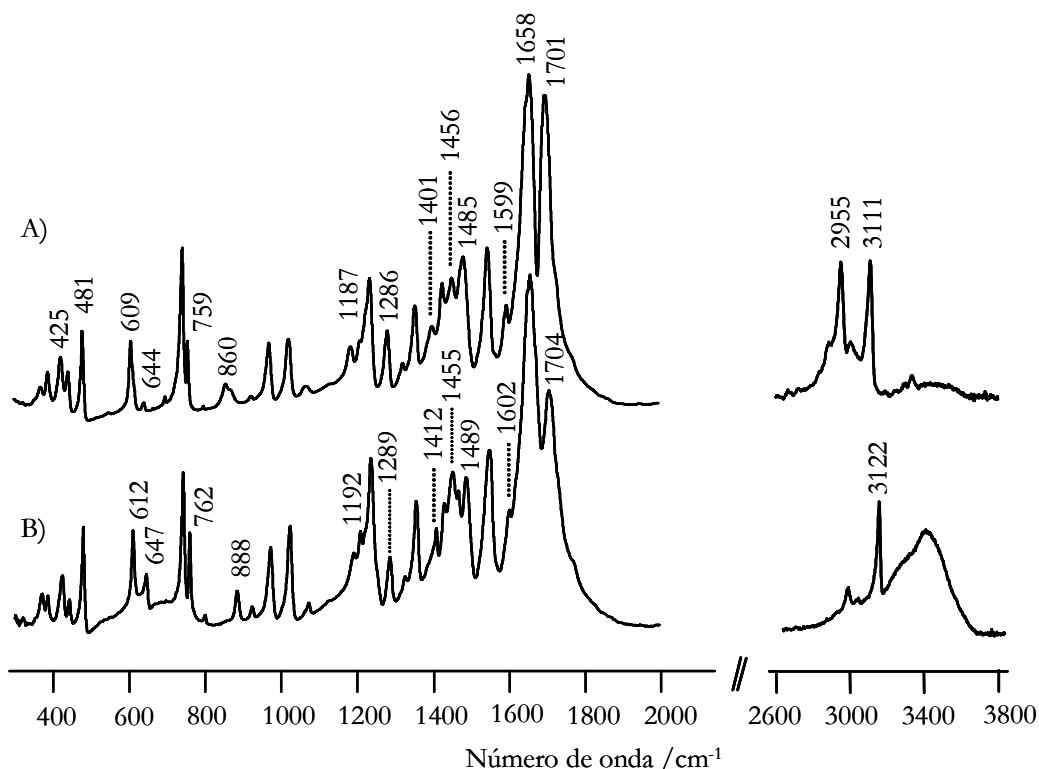


Figura IV.10 – Espectros de FT-IR da cafeína anidra (CAa, A) e cafeína hidratada (CAh, B) na região 350-2000 cm^{-1} e 2600-3800 cm^{-1} .

Uma variação espectral algo controversa ocorre numa banda da CAh centrada a 888 cm^{-1} . Quando se passa da CAh (B) para a CAa (A), esta banda desaparece, e dá origem a uma banda larga com intensidade máxima a 860 cm^{-1} . A banda situada a 888 cm^{-1} foi atribuída ao movimento de libração da água num trabalho publicado por *Edwards* e col.²². Contudo, esta atribuição não é suportada pelos estudos de deuteração realizados neste trabalho (espectro não apresentado), uma vez que essa banda permanece inalterada no espectro da CAh_d (CA hidratada deuturada, ver detalhes na Secção VIII.1.2 do Capítulo VIII) quando estão presentes no cristal apenas moléculas de D₂O. Com base nos desvios previstos (Tabela IV.3), estas bandas são atribuídas ao modo $\gamma_{C(8)H}$.

Adicionalmente, na região do modo $\gamma_{C(8)H}$, observou-se uma variação espectral significativa quando se passa da CAh para CAa. A banda atribuída ao $\gamma_{C(8)H}$ é desviada para

menores frequências, isto é, passa de 3122 cm^{-1} na CAh para 3114 cm^{-1} na CAa e simultaneamente sofre um significativo aumento de intensidade. Estas variações espectrais, verificadas quando se passa da forma hidratada para a forma anidra, são similares às observadas com a TP (desvio para menores frequências, de 3122 cm^{-1} para 3106 cm^{-1} com considerável aumento de intensidade). Esta comparação fornece informações importantes em relação aos padrões das interações intermoleculares existentes nas duas formas (anidra e hidratada) destes sistemas, como será discutido seguidamente.

No geral, as similaridades espectrais entre a CAh e CAa parecem indicar que os padrões das interações intermoleculares existentes nas duas formas são similares quer no grupo doador/aceitador quer na força da interação. Dado que na CAa não se observam doadores de ligação de hidrogénio fortes, as únicas possíveis ligações de hidrogénio são do tipo $C_{(8)}-H\cdots X$, em que X pode ser um átomo de O - ou N -, com os modos vibracionais atribuídos ao grupo $C(8)H$ a serem sensíveis a interações estabelecidas pelo grupo mais próximo $N(9)H$. Com base nos cálculos *ab initio* efectuados, há indicações de uma maior estabilidade com a formação de interações $C_{(8)}-H\cdots N_{(9)}$ em relação à formação da interação $C_{(8)}-H\cdots O_{(2)}$. Deste modo, é razoável assumir que no caso da CAa, a principal interação intermolecular é a de *van der Waals*, mas com uma contribuição de um contacto específico $C_{(8)}-H\cdots N_{(9)}$.

Atendendo ao facto de que a região $\nu C=O$ permanece praticamente inalterada quando se passa da CAh para a CAa, é também razoável considerar a presença de interações fracas $C_{(1)}-H\cdots O_{(6)}/C_{(1)}-H\cdots O_{(2)}$ ou $C_{(3)}-H\cdots O_{(6)}/C_{(3)}-H\cdots O_{(2)}$ na estrutura da CAa. A presença destas interações explica, em certa medida, a similaridade observada nas bandas de elongação do carbonilo na CAa e CAh e também o *desvio para o azul* (desvio para maiores frequências) no modo de elongação do grupo $C-H$ que envolve o grupo metilo, nomeadamente $\nu_{as} C(1)H_3$ e $\nu_{as} C(3)H_3$, quando se passa da CAh para CAa.

IV.3 – Conclusões

Neste Capítulo é apresentada uma nova metodologia para a atribuição de espectros vibracionais de cristais moleculares, com base nos desvios resultantes da presença de contactos intermoleculares avaliados por cálculos *ab initio*. Esta abordagem foi testada em compostos farmacologicamente activos, teofilina, teobromina e cafeína (metil-xantinas), e que

são conhecidas por apresentar pseudopolimorfismo e interações intermoleculares fortes. Verificou-se que a metodologia proposta é simples, pouco exigente computacionalmente, e fornece resultados de confiança. Esta metodologia pode ser particularmente útil na detecção e na caracterização estrutural de transformações sólido-sólido, as quais podem afectar significativamente a actividade de algumas drogas farmacêuticas.

Os principais erros desta metodologia são originados por 1) não considerar nem os efeitos das interações fracas/longo alcance nem o efeito de cooperatividade das várias interações e 2) diferenças entre as geometrias optimizadas dos pares moleculares e os seus arranjos no cristal. Estes erros são claramente superiores aos erros resultantes das limitações do conjunto de base padrão utilizado. Contudo, o número de inconsistências ou previsões erróneas (discutidas ao longo deste Capítulo) é bastante baixo, tendo em consideração a simplicidade da metodologia e a complexidade dos sistemas em estudo.

Com base na nova metodologia PiMM, foi realizada uma investigação sistemática das transformações pseudopolimórficas e interações intermoleculares que ocorrem na teofilina, teobromina e cafeína assim como uma atribuição completa e consistente dos seus espectros vibracionais. Para além de resolver algumas atribuições erróneas existentes na literatura, este trabalho evidencia a importância da utilização complementar da espectroscopia vibracional com cálculos *ab initio* no estudo de alguns sólidos farmacêuticos.

Dado que o movimento vibracional é potencialmente diferente dependendo do empacotamento e do arranjo conformacional, a presença de diferentes ligações de hidrogénio na teofilina, teobromina e cafeína e seus pseudopolimorfos afectam diferentemente as frequências vibracionais, intensidades e perfis de algumas bandas características. Os modos pseudopolimórficos mais sensíveis são relacionados com os grupos doador e aceitador envolvidos em cada ligação de hidrogénio intermolecular. De facto, considerando o conjunto de resultados obtidos, os modos vibracionais relacionados com os grupos $C=O$, $N-H$ e $C-H$, nomeadamente $\nu C=O$, $\nu N-H$, $\nu C-H$, $\beta C-H$, $\beta N-H$, $\gamma N-H$ e $\gamma C-H$, são os modos mais fortemente afectados pela formação de ligações de hidrogénio. Adicionalmente, o estudo dos desvios das frequências vibracionais promovidos por cada contacto permitiu obter novas informações relacionadas com a estrutura cristalina da cafeína anidra. A presença de interações intermoleculares $C_{(8)}-H\cdots N_{(9)}$ e $C_{(1,3)}-H\cdots O$ permite explicar as diferenças verificadas entre os espectros vibracionais da cafeína anidra e da cafeína hidratada.

IV.4 – Bibliografia

1. Schmitt M, Popp J 2006. Raman spectroscopy at the beginning of the twenty-first century. *J Raman Spectrosc* 37:20-28.
2. Nolasco MM, Ribeiro-Claro PJA 2005. C-H \cdots O hydrogen bonds in cyclohexenone reveal the spectroscopic behavior of C_{sp3}-H and C_{sp2}-H donors. *ChemPhysChem* 6:496-502.
3. Vaz PD, Ribeiro-Claro PJA 2005. The role of C-H \cdots O interactions in the solid and liquid-phase structures of methyltrioxo rhenium. *Eur J Inorg Chem* 1836–1840.
4. Nogueira HIS, Cruz SMG, Soares-Santos PCR, Ribeiro-Claro PJA, Trindade T 2003. Surface adsorption of 4,4'-dithiodipyridine and 2,2'-dithiodipyridine on silver nanoparticles. *J Raman Spectrosc* 34:350-356.
5. Ribeiro-Claro PJA, Marques MPM, Amado AM 2002. Experimental and theoretical evidence of C-H \cdots O hydrogen bonding in liquid 4-fluorobenzaldehyde. *ChemPhysChem* 3:599-606.
6. Vippagunta SR, Brittain HG, Grant DJW 2001. Crystalline solids. *Adv Drug Del Rev* 48:3–26.
7. Bernstein J, Davey RJ, Henck JO 1999. Concomitant polymorphs. *Angew Chem Int Ed Engl* 38:3440-3461.
8. Nangia A, Desiraju GR 1999. Pseudopolymorphism: occurrences of hydrogen bonding organic solvents in molecular crystals. *Chem Commun* 605-606.
9. Khankari RK, Grant DJW 1995. Pharmaceutical hydrates. *Thermochim Acta* 248:61-79.
10. Hu T-C, Wang S-L, Chen T-F, Lin S-Y 2002. Hydration-induced proton transfer in the solid state of Norfloxacin. *J Pharm Sci* 91:1351-1357.
11. Huang L-F, Tong W-Q 2004. Impact of solid state properties on developability assessment of drug candidates. *Adv Drug Del Rev* 56:321-334.
12. Snider DA, Addicks W, Owens W 2004. Polymorphism in generic drug product development. *Adv Drug Del Rev* 56:391– 395.
13. Johnson CE, VanDekoppel S, Myers E 2005. Stability of anhydrous theophylline in extemporaneously prepared alcohol-free oral suspensions. *Am J Health-Syst Pharm* 62:2518-2520.
14. Ates N, Sahin D, Ilbay G 2004. Theophylline, a methylxanthine derivative, suppresses absence epileptic seizures in WAG/Rij rats. *Epilepsy Behav* 5:645-648.
15. Thomas JB, Yen JH, Schantz MM, Porter BJ, Sharpless KE 2004. Determination of caffeine, theobromine, and theophylline in standard material 2384, baking chocolate, using reversed-phase liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 52:3259-3263.
16. George KC, Hebbar SA, Kale SP, Kesavan PC 1999. Caffeine protects mice against whole-body lethal dose of γ -irradiation. *J Radiol Prot* 19:171-176.
17. Jørgensen A, Rantanen J, Karjalainen M, Khriachtchev L, Räsänen E, Yliruusi J 2002. Hydrate formation during wet granulation studied by spectroscopic methods and multivariate analysis. *Pharm Res* 19:1285-1291.
18. Airaksinen S, Karjalainen M, Räsänen E, Rantanen J, Yliruusi J 2004. Comparison of the effects of two drying methods on polymorphism of theophylline. *Int J Pharm* 276:129-141.
19. Adeyeye CM, Rowley J, Madu D, Javadi M, Sabnis SS 1995. Evaluation of crystallinity and drug release stability of directly compressed theophylline hydrophilic matrix tablets stored under varied moisture conditions. *Int J Pharm* 116:65-75.
20. Phadnis NV, Suryanarayanan R 1997. Polymorphism in anhydrous theophylline - implications on the dissolution rate of theophylline tablets. *J Pharm Sci* 86:1256-1263.

21. Suihko E, Lehto VP, Ketolainen J, Laine E, Paronen P 2001. Dynamic solid-state and tableting properties of four theophylline forms. *Int J Pharm* 217:225–236.
22. Edwards HGM, Lawson E, de Matas M, Shields L, York P 1997. Metamorphosis of caffeine hydrate and anhydrous caffeine. *J Chem Soc Perkin Trans 2*:1985-1990.
23. de Matas M, Edwards HGM, Lawson EE, Shields L, York P 1998. FT-Raman spectroscopic investigation of a pseudopolymorphic transition in caffeine hydrate. *J Mol Struct* 440:97-104.
24. Ahlqvist MUA, Taylor LS 2002. Water dynamics in channel hydrates investigated using H/D exchange. *Int J Pharm* 241:253-261.
25. Griesser UJ, Burger A 1995. The effect of water vapor pressure on desolvation kinetics of caffeine 4/5-hydrate. *Int J Pharm* 120:83-93.
26. Pirttimäki J, Laine E 1994. The transformation of anhydrate and hydrate forms of caffeine at 100% RH and 0% RH. *Eur J Pharm Sci* 1:203-208.
27. Derollez P, Correia NT, Danède F, Capet F, Affouard F, Lefebvre J, Descamps M 2005. Ab initio structure determination of the high-temperature phase of anhydrous caffeine by X-ray powder diffraction. *Acta Cryst B*61:329-334.
28. Epple M, Cammenga HK, Sarge SM, Diedrich R, Balek V 1995. The phase transformation of caffeine: investigation by dynamic X-ray diffraction and emanation thermal analysis. *Thermochim Acta* 250:29-39.
29. Bossu FP, Margerum DW 1976. The effect of crystal packing and defects on desolvation of hydrate crystals of caffeine and L-(-)-1,4-cyclohexadiene-l-alanine. *J Am Chem Soc* 98:4004-4005.
30. Debnath S, Suryanarayanan R 2004. Influence of processing-induced phase transformations on the dissolution of theophylline tablets. *AAPS PharmSciTech* 5 Article 8.
31. Negro S, Herrero-Vanrell R, Barcia E, Villegas S 2001. Comparative study of the dissolution profiles of a commercial theophylline product after storage. *Arch Pharm Res* 24:568-571.
32. Ford KA, Ebisuzaki Y, Boyle PD 1998. Methylxanthines. II. Anhydrous theobromine. *Acta Cryst C*54:1980-1983.
33. Ebisuzaki Y, Boyle PD, Smith JA 1997. Methylxanthines. I. Anhydrous theophylline. *Acta Cryst C*53:777-779.
34. Sun C, Zhou D, Grant DJW, Young Jr VG 2002. Theophylline monohydrate. *Acta Cryst E*58:368-370.
35. Sutor DJ 1958. The structures of the pyrimidines and purines. VI. The crystal structure of theophylline. *Acta Cryst* 11:83-87.
36. Sutor DJ 1958. The structures of the pyrimidines and purines. VII. The crystal structure of caffeine. *Acta Cryst* 11:453-458.
37. De Taeye J, Zeegers-Huyskens T 1986. Infrared spectrum of caffeine and its hydrochloride dihydrate. *Spectrosc Lett* 19:299-310.
38. Tarulli S, Baran EJ 1993. Spectroscopic behaviour of the two C=O stretching vibrations in free and complexed theophylline. *J Raman Spectrosc* 24:139-141.
39. Nyquist RA, Fiedler SL 1995. Infrared study of five- and six-membered type cyclic imides. *Vib Spectrosc* 8:365-386.
40. Pavel I, Szeghalmi, Moigno D, Cîntă S, Kiefer W 2003. Theoretical and pH dependent surface enhanced Raman spectroscopy study on caffeine. *Biopolymers* 72:25-37.
41. Gunasekaran S, Sankari G, Ponnusamy S 2005. Vibrational spectral investigation on xanthine and its derivatives—theophylline, caffeine and theobromine. *Spectrochim Acta A*61:117–127.

42. Edwards HGM, Munshi T, Anstis M 2005. Raman spectroscopic characterisations and analytical discrimination between caffeine and demethylated analogues of pharmaceutical relevance. *Spectrochim Acta* A61:1453–1459.
43. Ribeiro-Claro PJA, Amado AM 2005. Comment on vibrational spectral investigation on xanthine and its derivatives—theophylline, caffeine and theobromine. *Spectrochim Acta* A61:2796–2797.
44. Nolasco MM, Amado AM, Ribeiro-Claro PJA 2006. Computationally-assisted approach to the vibrational spectra of molecular crystals: study of hydrogen-bonding and pseudo-polymorphism in theophylline, theobromine and caffeine. *ChemPhysChem* 7:2150–2161.
45. Suihko E, Ketolainen J, Poso A, Ahlgren M, Gynther J, Paronen P 1997. Dehydration of theophylline monohydrate - a two step process. *Int J Pharm* 158:47-55.
46. Naqvi AA, Bhattacharyya GC 1981. Crystal data for anhydrous theophylline. *J Appl Cryst* 14:464-464.
47. Smith EDL, Hammond RB, Jones MJ, Roberts KJ, Mitchell JBO, Price SL, Harris RK, Apperley DC, Cherryman JC, Docherty R 2001. The determination of the crystal structure of anhydrous theophylline by X-ray powder diffraction with a systematic search algorithm, lattice energy calculations, and ^{13}C and ^{15}N solid-state NMR: a question of polymorphism in a given unit cell. *J Phys Chem B* 105:5818-5826.
48. Bothe H, Cammenga HK 1980. Composition, properties, stability and thermal dehydration of crystalline caffeine hydrate. *Thermochim Acta* 40:29-39.
49. Carlucci L, Gavezzotti A 2005. Molecular recognition and crystal energy landscapes: an X-ray and computational study of caffeine and other methylxanthines. *Chem Eur J* 11:271-279.
50. Ribeiro-Claro PJA, Vaz PD 2004. Towards the understanding of the spectroscopic behaviour of the C-H oscillator in C-H \cdots O hydrogen bonds: the effect of solvent polarity. *Chem Phys Lett* 390:358-361.

Capítulo V

Transições pseudopolimórficas em sólidos farmacêuticos: avaliação por espectroscopia de Raman

“O essencial é invisível aos olhos”

A. S. Éxupery

ÍNDICE

Capítulo V

<i>Transições pseudopolimórficas em sólidos farmacêuticos: avaliação por espectroscopia de Raman</i>	143
--	-----

RESUMO	145
V.1 – Introdução	146
V.1.1 – Importância do conhecimento das transições polimórficas e pseudopolimórficas	146
V.1.2 – Monitorização das transições pseudopolimórficas: metodologia experimental	149
V.2 – Resultados e discussão	153
V.2.1 – Selecção das regiões espectrais mais sensíveis a transições pseudopolimórficas	153
V.2.1.1 – Cafeína	153
V.2.1.2 – Teofilina	154
V.2.2 – Calibração	155
V.2.2.1 – Cafeína	155
V.2.2.2 – Teofilina	157
V.2.3 – Transição anidro → hidrato: determinação do mecanismo	158
V.2.3.1 – Cafeína	159
V.2.3.2 – Teofilina	161
V.2.4 – Transição anidro → hidrato: determinação da humidade relativa crítica	165
V.2.4.1 – Cafeína	165
V.2.4.2 – Teofilina	166
V.2.5 – Transição hidrato → anidro: determinação do mecanismo	167
V.2.5.1 – Cafeína	167
V.2.5.2 – Teofilina	170
V.2.6 – Transição hidrato → anidro: determinação da humidade relativa crítica	174
V.2.6.1 – Cafeína	174
V.2.6.2 – Teofilina	175
V.3 – Conclusões	175
V.4 – Bibliografia	177

RESUMO

Os sistemas cafeína e teofilina são conhecidos por serem susceptíveis a transições pseudopolimórficas anidro↔hidrato reversíveis. Neste contexto, foram estudados, por espectroscopia de Raman, os mecanismos de hidratação e desidratação destes sistemas em diferentes condições experimentais. Adicionalmente, determinaram-se os valores de humidade relativa crítica, correspondentes ao processo de hidratação e desidratação.

O processo de hidratação da cafeína (CA) ocorre num só passo com uma constante de velocidade de 0.00114 min^{-1} e o valor de humidade relativa crítica correspondente situa-se a valores superiores a 81%. O processo de desidratação deste sistema a 35°C é um processo que envolve dois passos e o valor de humidade relativa crítica correspondente ao processo de desidratação ocorre no intervalo de valores de 42-30 %.

No caso da teofilina (TP), a desidratação ocorre por um mecanismo de dois passos, enquanto que a hidratação envolve um único passo com uma constante de velocidade de 0.003 min^{-1} . Na teofilina anidra, o valor obtido para a humidade relativa crítica foi de aproximadamente 79%. No caso da desidratação, o valor de humidade relativa crítica obtido foi de aproximadamente 30%.

No presente Capítulo, é apresentada uma metodologia experimental com recurso à espectroscopia de Raman que permite monitorizar as transições pseudopolimórficas (através das correspondentes variações observadas nos espectros vibracionais) resultantes dos processos de hidratação e desidratação, em diferentes condições experimentais, da cafeína (CA) e teofilina (TP). Adicionalmente, para o sistema TP é determinado, por análise gravimétrica, o teor de água de algumas amostras. Deste modo, torna-se possível inferir acerca dos mecanismos envolvidos em ambos os processos, bem como dos valores de humidade relativa crítica para ambas as formas anidra e hidratada da CA e TP¹.

Na primeira parte do Capítulo, é evidenciada a importância do conhecimento das transições polimórficas e pseudopolimórficas, quer no desenvolvimento de formulações estáveis de fármacos quer no processamento e armazenamento dos mesmos, e é descrita a metodologia experimental utilizada. De seguida, os resultados obtidos com a CA e TP são discutidos em duas secções, nomeadamente: 1) selecção das regiões espectrais (FT-Raman) mais sensíveis às alterações pseudopolimórficas e correspondentes calibrações (para determinar intensidades intrínsecas); 2) discussão dos resultados em termos dos mecanismos de hidratação e desidratação destes sistemas, em diferentes condições experimentais, e determinação dos valores de humidade relativa crítica correspondentes a ambos os processos.

V.1 – Introdução

V.1.1 – Importância do conhecimento das transições polimórficas e pseudopolimórficas

As alterações imprevisíveis nas formas polimórficas e pseudopolimórficas de alguns sólidos farmacêuticos, que afectaram assim a qualidade e estabilidade das formas finais do medicamento, levaram a que indústrias farmacêuticas tivessem problemas no lançamento de alguns medicamentos. Um caso bem conhecido é o do Norvir®, uma marca comercial das cápsulas semi-sólidas de ritonavir^{2,3}. O desenvolvimento comercial deste medicamento como uma cápsula semi-sólida iniciou-se em 1996, verificando-se, dois anos depois, que a maioria dos lotes do produto final falharam nos testes de dissolução. Esta situação foi explicada tendo em conta o facto de que, durante o armazenamento, o fármaco em questão se converteu num polimorfo, até então desconhecido, termodinamicamente mais estável mas menos solúvel, provocando assim uma perda da sua bioactividade^{2,3}. Um exemplo semelhante verificou-se com a fenitoina (medicamento usado no controle da epilepsia), devido ao armazenamento das cápsulas em condições de frio e humidade⁴.

A capacidade que alguns sólidos farmacêuticos apresentam para formar espécies hidratadas (hidratação) está fortemente relacionada com a formação de ligações de hidrogénio: a presença de diversos grupos doadores/aceitadores da ligação de hidrogénio torna mais provável a ocorrência de pseudopolimorfismo.

Aproximadamente 1/3 dos sólidos farmacêuticos são susceptíveis a transições pseudopolimórficas anidro \leftrightarrow hidrato reversíveis, dependendo das condições ambientais⁵. Por exemplo, a formação de um hidrato pode ser alcançada por absorção de água a uma humidade relativa superior ao valor de equilíbrio entre o anidro e o hidrato,⁶ valor considerado como actividade da água a_w , que no caso particular de vapor de água é considerado por percentagem de humidade relativa, $\%RH = a_w \times 100$.

Os processos de hidratação e desidratação podem provocar efeitos significativos numa variedade de propriedades físicas e químicas, e eventualmente modificar propriedades farmacêuticas tais como solubilidade, dissolução e biodisponibilidade^{6,7}. Assim sendo, a detecção e o conhecimento das interacções estabelecidas entre os sólidos farmacêuticos e a água assumem um papel de extrema importância no aperfeiçoamento e controle da qualidade do produto final.

A cafeína (CA) e a teofilina (TP) – representadas esquematicamente na Figura V.1 – como referido anteriormente na Secção IV.1.2 do Capítulo IV, podem sofrer transformações polimórficas e pseudopolimórficas⁸⁻²⁰ reversíveis anidro (CAa, TPa) \leftrightarrow hidrato (CAh, TPh) que afectam a sua solubilidade e consequentemente a sua biodisponibilidade²¹⁻²³.

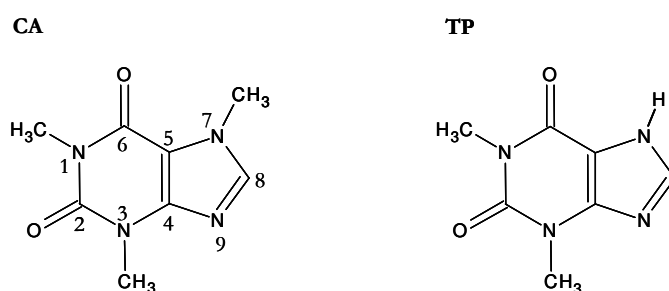


Figura V.1 – Representação esquemática da cafeína (CA) e da teofilina (TP).

O estudo da interconversão anidro \leftrightarrow hidrato, verificada nos sistemas CA e TP, é de particular interesse quer no desenvolvimento de formulações estáveis de fármacos que envolvam estes sistemas, uma vez que as propriedades físico-químicas, biológicas e mecânicas dos hidratos podem diferir significativamente das apresentadas pelos anidros, quer no

processamento e armazenamento dos mesmos. Dado que estes dois sistemas CA e TP constituem bons exemplos para caracterizar o estado de hidratação pela monitorização de alterações pseudopolimórficas, vários estudos envolvendo ambos os processos (hidratação CAa, TPa \rightarrow CAh, TPh e desidratação CAh, TPh \rightarrow CAa, TPa) podem ser encontrados na literatura, principalmente para o sistema TP^{10,16,18-20,24-40}. Adicionalmente, o efeito de diferentes excipientes em ambas as transições pseudopolimórficas anidro \rightarrow hidrato e hidrato \rightarrow anidro foi estabelecido, por diversos autores, para a TP⁴¹⁻⁴⁵. Contudo, estes estudos não só aplicam diferentes técnicas (que variam desde métodos termogravimétricos a espectroscópicos), como consideram diferentes condições experimentais (temperatura, humidade, preparação e manuseamento da amostra), situações para as quais é conhecido que ambas as transições pseudopolimórficas podem ser afectadas.

Os factos referidos anteriormente constituem, provavelmente, a origem de algumas discrepâncias encontradas na literatura. Um exemplo desta situação é verificado ao comparar-se os resultados obtidos por *Otsuka* e col.^{38,39} com os resultados obtidos por *Suibko* e col.²⁵. No primeiro trabalho^{38,39}, é verificado que a velocidade de hidratação da TPa diminui com o aumento da porosidade e da pressão utilizada na preparação das pastilhas, enquanto que, no segundo trabalho²⁵, são obtidos resultados opostos.

Relativamente ao processo de desidratação da TPh, foram sugeridos diferentes mecanismos cinéticos.^{26,32-34,36,38,39}. Além disso, foram também obtidos diferentes valores para a energia de activação (E_a) do processo.^{26,32-34,36,38,39}. Numa tentativa de explicar estas discrepâncias, *Aghada* e *York*³² sugeriram mesmo que quer o mecanismo do processo quer a energia de activação são dependentes da técnica experimental utilizada.

Atendendo aos factos descritos anteriormente, é mais razoável assumir que as diferenças observadas são devidas às diferentes condições experimentais utilizadas pelos diferentes autores. Por este motivo, torna-se particularmente importante estudar ambas as transições pseudopolimórficas (hidratação e desidratação) usando a mesma metodologia experimental (grau de moagem, temperatura, humidade e técnica de análise).

Com o objectivo de estudar os efeitos da temperatura e da humidade relativa nas transições pseudopolimórficas da TP e CA, estabelecendo-se adicionalmente os mecanismos envolvidos em ambos os processos bem como os valores de humidade relativa crítica para ambas as formas anidra e hidratada da CA e TP, foi aplicada uma metodologia experimental com recurso à espectroscopia de Raman, que será apresentada seguidamente.

V.1.2 – Monitorização das transições pseudopolimórficas: metodologia experimental

As vibrações moleculares são afectadas pelas diferenças estruturais que caracterizam as transições pseudopolimórficas, neste caso particular anidro \leftrightarrow hidrato. Neste contexto, a espectroscopia vibracional pode ser utilizada na monitorização qualitativa e quantitativa das transições pseudopolimórficas pelas correspondentes variações nos espectros vibracionais. De facto, à medida que um sólido cristalino absorve água, a rede cristalina adapta-se de maneira a acomodar as moléculas de água (transição pseudopolimórfica). Esta situação provoca, no interior da estrutura, alterações na força, número e tipo de interacções intermoleculares, que se reflectem nos modos vibracionais e que podem ser monitorizadas por alterações observadas nos espectros vibracionais.

A espectroscopia de Raman é uma ferramenta extremamente útil na detecção de ligações de hidrogénio entre moléculas, no estado sólido, incluindo polimorfos e pseudopolimorfos (solvatos e hidratos)⁴⁶⁻⁵⁵. Apesar de se obterem informações similares pelas espectroscopias de absorção no Infravermelho e de difusão de Raman, esta última apresenta algumas vantagens em relação à primeira. No âmbito particular do presente trabalho, a vantagem mais relevante é a fraca actividade de Raman exibida pelas vibrações da água, as quais, sendo fortemente activas em infravermelho, ocultam uma ampla zona espectral do espectro de infravermelho. Adicionalmente não é necessário preparar as amostras, tornando-se deste modo uma técnica mais rápida e que permite a manutenção da integridade da amostra. Deste modo, a espectroscopia de Raman tem sido utilizada para monitorizar processos de hidratação e desidratação de vários sistemas, nomeadamente diferentes açúcares, tais como a glucose e ciclodextrinas⁵⁶⁻⁶², e sólidos farmacêuticos^{7,15,24,41,63}.

A espectroscopia de Raman permite a monitorização qualitativa das transições pseudopolimórficas em termos de alterações estruturais subjacentes aos processos de hidratação e desidratação. A monitorização quantitativa das transições pseudopolimórficas em diferentes condições experimentais de temperatura e humidade relativa, permite a determinação dos mecanismos envolvidos nos processos de hidratação e desidratação e dos valores de humidade relativa crítica para ambas as formas anidra e hidratada e pode também ser estabelecida por espectroscopia de Raman.

No contexto do presente trabalho, diferentes formas pseudopolimórficas (A e B) dão origem a diferentes bandas de Raman e a intensidade observada (I_A e I_B) da banda associada a uma determinada forma pseudopolimórfica (A e B) é directamente proporcional à intensidade

intrínseca do correspondente modo vibracional (δ_A e δ_B) e à concentração relativa dessa forma pseudopolimórfica na amostra (C_A e C_B):

$$I_{A,B} = \delta_{A,B} \times C_{A,B} \quad (1)$$

Adicionalmente, a presença de um ponto pseudo-isosbético entre duas bandas do espectro de Raman associadas ao mesmo modo vibracional mas pertencentes a formas pseudopolimórficas diferentes é uma indicação de que existem apenas duas espécies em equilíbrio e que se interconvertem directamente^{64,65}. Consequentemente, na existência desse ponto, os dados obtidos por espectroscopia de Raman podem ser convertidos para dados normalizados, denominados fracção de conversão (α), que varia entre 0 e 1 e constitui uma medida do progresso da transição pseudopolimórfica, em termos de transferência de intensidade de uma banda para outra, em função do tempo. Isto é, permite determinar as proporções relativas da forma anidra (α_a) e hidratada (α_h) na amostra a um determinado tempo t (tempo de exposição a condições de humidade relativa (sigla em inglês RH) ou tempo de armazenamento a uma determinada temperatura).

De maneira a poder calcular correctamente os valores de α_h e α_a relativos ao processo de hidratação e desidratação, é necessário construir previamente curvas de calibração, estabelecidas com misturas físicas de ambas as formas (anidra e hidratada) e com composição conhecida. De facto, dado que a intensidade intrínseca relativa de um determinado modo vibracional pode diferir significativamente dependendo da forma pseudopolimórfica considerada, as intensidades intrínsecas relativas (δ_h/δ_a e δ_a/δ_h) correspondente ao modo vibracional em análise têm de ser calculadas previamente. Assim sendo, as intensidades intrínsecas relativas (δ_h/δ_a e δ_a/δ_h) correspondentes ao modo vibracional em análise são determinadas por ajuste linear das intensidades relativas previstas (obtidas por ajuste de bandas, ver Secção VIII.1.7.1 do Capítulo VIII) em função das fracções molares conhecidas. Deste modo, os valores da fracção de hidratação (α_h) e desidratação (α_a) a um determinado tempo t (tempo de exposição a condições de RH ou tempo de armazenamento a uma determinada temperatura) podem ser determinados respectivamente como:

$$\alpha_h(t) = I_h / [I_h + (\delta_h/\delta_a) I_a] \quad (2)$$

e

$$\alpha_a(t) = I_a / [I_a + (\delta_a/\delta_h) I_h] \quad (3)$$

em que $I_{a,h}$ é a intensidade das bandas atribuídas às formas anidra e hidratada, respectivamente (determinadas por ajuste de bandas) e $\delta_{a,h}$ é a intensidade intrínseca da banda correspondente ao modo vibracional em análise, considerando, respectivamente, a forma anidra e hidratada. Uma vez obtidas as fracções de conversão α , é possível obter uma série de parâmetros cinéticos respeitantes aos processos de hidratação e desidratação pelo ajuste de diferentes modelos aos dados obtidos, permitindo assim identificar os mecanismos subjacentes a ambos os processos. Para caracterizar os mecanismos de reacções no estado sólido⁶⁶⁻⁶⁸, tais como as presentes transições pseudopolimórficas, foram propostos diferentes modelos cinéticos $f(\alpha)$ (ver Tabela V.1).

Tabela V.1 – Mecanismos de reacções no estado sólido⁶⁶⁻⁶⁸ e respectivas equações.

Modelo	$f(\alpha) = kt^{[a]}$	Mecanismo controlo - velocidade de conversão
M1	$\alpha^{1/4}$	Lei de potência
M2	$\alpha^{1/3}$	Lei de potência
M3	$\alpha^{1/2}$	Lei de potência
M4	$\alpha^{3/2}$	Lei de potência
M5	$1 - \alpha$	Reacção de fronteira de fase a uma dimensão (ordem-zero)
M6	$1 - (1 - \alpha)^{1/2}$	Reacção de fronteira de fase a duas dimensões (simetria cilíndrica)
M7	$1 - (1 - \alpha)^{1/3}$	Reacção de fronteira de fase a três dimensões (simetria esférica)
M8	$-\ln(1 - \alpha)$	Nucleação aleatória (equação de <i>Mampel</i>)
M9	$(-\ln(1 - \alpha))^{1/2}$	Nucleação aleatória (equação de <i>Avrami-Erofeev</i> , $n = 1/2$)
M10	$(-\ln(1 - \alpha))^{1/3}$	Nucleação aleatória (equação de <i>Avrami-Erofeev</i> , $n = 1/3$)
M11	$(-\ln(1 - \alpha))^{1/4}$	Nucleação aleatória (equação de <i>Avrami-Erofeev</i> , $n = 1/4$)
M12	$(-\ln(1 - \alpha))^{2/3}$	Nucleação aleatória (equação de <i>Avrami-Erofeev</i> , $n = 2/3$)
M13	α	Mecanismo de ordem zero (equação de <i>Polanyi-Wigner</i>)
M14	α^2	Difusão a uma dimensão
M15	$(1 - \alpha)\ln(1 - \alpha) + \alpha$	Difusão a duas dimensões
M16	$(1 - (1 - \alpha)^{1/3})^2$	Difusão a três dimensões (equação de <i>Jander</i>)
M17	$1 - \frac{2}{3}\alpha - (1 - \alpha)^{2/3}$	Difusão a três dimensões (equação de <i>Ginstling-Brounshtein</i>)

[a] α representa a fracção de hidratação e desidratação; k é a constante de velocidade de reacção; t é o tempo de exposição a condições de RH ou tempo de armazenamento a uma determinada temperatura.

Pela representação de $f(\alpha)$ em função do tempo t deve ser obtida uma relação linear, cujo declive corresponde à constante de velocidade de reacção do processo. Os dados experimentais são ajustados aos diferentes modelos e aqueles que proporcionarem um melhor ajuste estatístico (ver Secção VIII.1.7.2 do Capítulo VIII) são escolhidos como modelos cinéticos a partir dos quais são estabelecidos alguns parâmetros cinéticos. Complementarmente, dado que a massa da amostra varia durante os processos de hidratação e desidratação, pode calcular-se directamente, através da análise gravimétrica, a fracção do conteúdo total de água ($x_{\text{H}_2\text{O}}$) e estabelecer assim a representação de $f(x_{\text{H}_2\text{O}})$ em função do tempo t .

De maneira a monitorizar, por espectroscopia de Raman e por análise gravimétrica, as alterações pseudopolimórficas que ocorrem durante a hidratação e desidratação da TP e CA em diferentes condições experimentais, foram efectuados diferentes tipos de experiências. No entanto, a metodologia experimental usada na preparação das amostras (ver detalhes na Secção VIII.1.3 do Capítulo VIII), tendo em consideração o peso inicial da amostra e grau de moagem, foi a mesma.

No processo de hidratação e dado que a CA e TP são conhecidas por formarem hidratos por exposição a uma humidade relativa de 100% ($\text{RH}=100\%$), estes sistemas, na forma comercial anidra, foram expostos a condições de $\text{RH}=100\%$ durante diferentes intervalos de tempo e à temperatura ambiente de 22 °C. No processo de desidratação, as amostras de CA e TP cristalizadas em água (CAh e TPh, respectivamente) foram armazenadas a diferentes temperaturas durante diferentes períodos de tempo. Em ambos os processos, as amostras correspondentes ao sistema TP foram pesadas antes e depois de determinados intervalos de tempo de exposição/armazenamento procedendo-se à determinação do teor em água das várias amostras.

Na determinação da humidade relativa crítica para ambas as formas anidra e hidratada dos sistemas CA e TP, foram utilizadas, respectivamente, amostras de CA e TP comerciais (anidras) e amostras cristalizadas em água (CAh e TPh). Estas foram expostas a diferentes condições de humidade relativa (RH a variar na gama 0-100%) durante o período de uma semana e à temperatura ambiente de 22 °C.

Nos diferentes tipos de experiências, foram registados os espectros de FT-Raman das várias amostras, tendo em consideração alguns cuidados experimentais (ver detalhes na Secção VIII.1.6.1 do Capítulo VIII).

V.2 – Resultados e discussão

V.2.1 – Seleção das regiões espectrais mais sensíveis a transições pseudopolimórficas

Alguns grupos funcionais, devido à sua elevada sensibilidade às condições ambientais, são mais afectados que outros pelas diferenças estruturais que caracterizam a formação anidro/hidrato. Consequentemente, as bandas correspondentes podem ser utilizadas na monitorização das alterações pseudopolimórficas verificadas durante o processo de hidratação/desidratação.

Deste modo, torna-se necessário seleccionar as regiões espectrais (FT-Raman) mais sensíveis a transições pseudopolimórficas. Adicionalmente, para poder aplicar a metodologia experimental desenvolvida anteriormente, é necessário que as regiões espectrais apresentem um ponto pseudo-isosbético e que possam ser descritas, através de um processo de ajuste, pela presença de apenas duas bandas, evitando assim o erro de excesso de parametrização.

V.2.1.1 – Cafeína

A Figura V.2 compara o espectro de Raman da CAa e CAh nas regiões espectrais compreendidas entre 100-1800 e 2700-3400 cm^{-1} . Embora os espectros vibracionais das duas formas sejam bastante similares, são observados pequenos desvios de frequência em algumas bandas e estão evidenciados na Figura V.2.

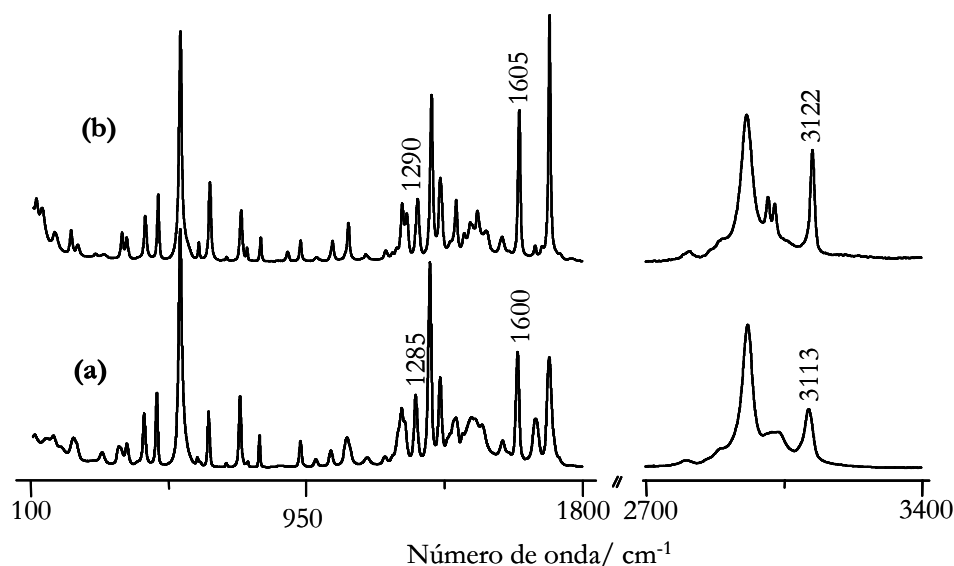


Figura V.2 – Espectros FT-Raman da cafeína anidra (CAa, a) e da cafeína hidratada (CAh, b) nas regiões espectrais 100-1800 cm^{-1} e 2700-3400 cm^{-1} . As regiões que apresentam as diferenças mais notórias estão evidenciadas.

De acordo com o trabalho realizado no Capítulo IV, estas bandas estão atribuídas a modos vibracionais de elongação dos osciladores $C_{(8)}-H$ ($3075-3155\text{ cm}^{-1}$), $C_{(4)}=C_{(5)}$ ($1580-1620\text{ cm}^{-1}$) e $C-C$ e $C-N$ ($1270-1310\text{ cm}^{-1}$). Nas restantes regiões espectrais são observadas apenas alterações subtis insuficientes para aplicar a metodologia descrita.

V.2.1.2 – Teofilina

Na Figura V.3 é estabelecida a comparação entre os espectros de Raman da TPa e da TPh nas zonas compreendidas entre $100-1800\text{ cm}^{-1}$ e $2750-3500\text{ cm}^{-1}$, sendo evidenciadas as regiões espectrais nas quais as diferenças entre as duas formas são mais notórias.

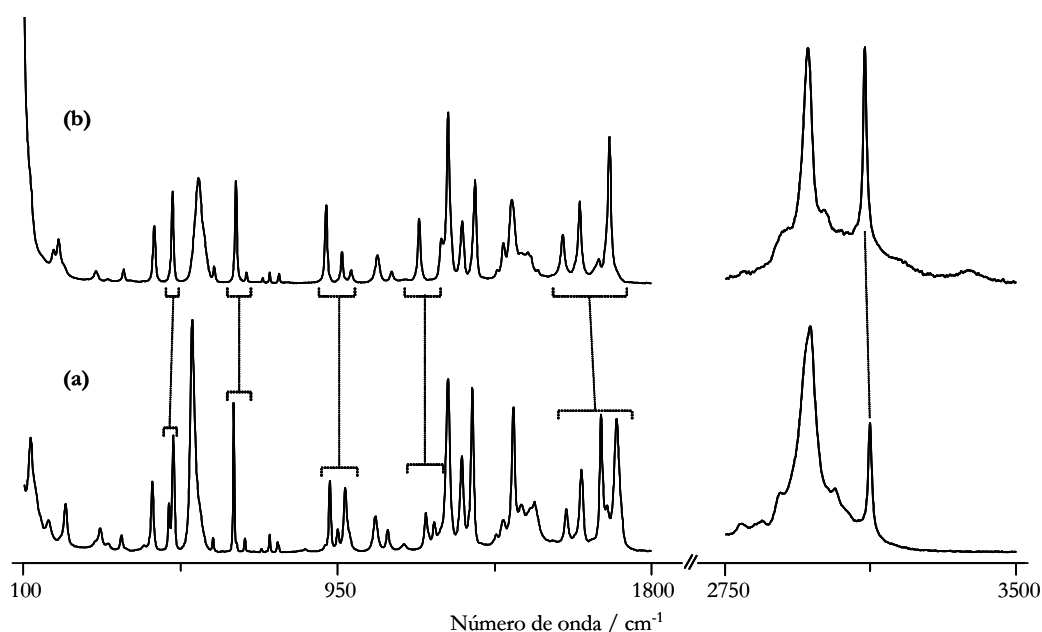


Figura V.3 – Espectros FT-Raman da teofilina anidra (TPa, a) e da teofilina hidratada (TPh, b) nas regiões espectrais $100-1800\text{ cm}^{-1}$ e $2750-3500\text{ cm}^{-1}$. As regiões que apresentam as diferenças mais notórias estão evidenciadas.

Pela análise da Figura anterior, verifica-se que as diferenças espectrais entre as formas TPa e TPh são evidentes ao longo de toda a zona espectral. De acordo com o trabalho realizado no Capítulo IV, estas bandas estão atribuídas a modos vibracionais de elongação dos osciladores $C_{(8)}-H$ ($3060-3160\text{ cm}^{-1}$), $C=O$ ($1650-1750\text{ cm}^{-1}$), $C_{(4)}=C_{(5)}$ ($1585-1630\text{ cm}^{-1}$) e $C-C$ e $C-N$ ($1540-1585\text{ cm}^{-1}$, $1300-1340\text{ cm}^{-1}$ e $1160-1203\text{ cm}^{-1}$). As restantes regiões ($900-940\text{ cm}^{-1}$ e $650-685\text{ cm}^{-1}$) são atribuídas, respectivamente, a modos de deformação no plano dos anéis imidazole ($\alpha_{\text{imidazole}}$) e pirimidina ($\alpha_{\text{pirimidina}}$). Das várias regiões espectrais, apenas três, nomeadamente $3060-3160\text{ cm}^{-1}$, $900-940\text{ cm}^{-1}$ e $650-685\text{ cm}^{-1}$ apresentam os requisitos

óptimos necessários. As restantes regiões espectrais evidenciadas na Figura V.3 não apresentam pontos pseudo-isobésticos ou incluem bandas atribuídas a ressonância de Fermi, conforme verificado no Capítulo IV.

V.2.2 – Calibração

De acordo com a metodologia descrita anteriormente, foi necessária a realização de estudos de calibração com misturas físicas contendo razões anidro/hidrato bem conhecidas, possibilitando assim a determinação das intensidades intrínsecas relativas (δ_h/δ_a e δ_a/δ_h) correspondente ao modo vibracional em análise para cada processo.

V.2.2.1 – Cafeína

Na Figura V.4 encontra-se representado o estudo de calibração (misturas físicas com diferentes fracções molares de CAh (ver detalhes na Secção VIII.1.4 do Capítulo VIII), realizado para o sistema CA e na região espectral correspondente ao modo vibracional de elongação do oscilador $C_{(8)}-H$ ($3075-3155\text{ cm}^{-1}$).

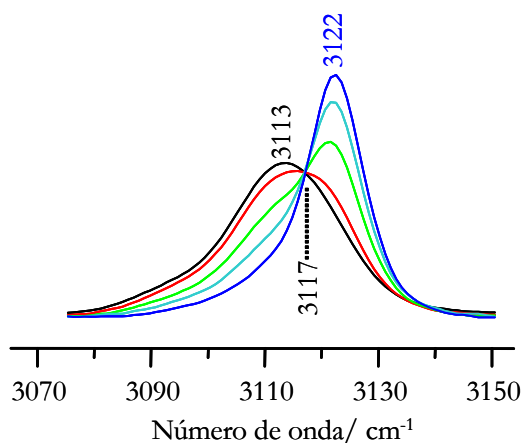


Figura V.4 – Espectros FT-Raman, na região espectral $3075-3155\text{ cm}^{-1}$, de misturas físicas com fracções molares de cafeína hidratada (CAh) iguais a 0.0, 0.155, 0.500, 0.751 e 1. Verifica-se a presença de um ponto pseudo-isobéstico a aproximadamente 3117 cm^{-1} .

Ao considerar-se que as intensidades intrínsecas das duas bandas 3113 e 3122 cm^{-1} são iguais, o ajuste linear das intensidades relativas previstas (determinadas por ajuste de bandas) em função das fracções molares conhecidas (Figura V.5a), apesar de se verificar um coeficiente de correlação bastante satisfatório, apresenta um valor de a (intercepção da recta de regressão linear no eixo do y) ainda afastado (-0.02994) do valor desejado (0.0). De maneira

a aproximar os valores de a e b (declive) aos valores ideais de 0.0 e 1.0 (Figura V.5b), é determinado um factor de correcção que corresponde à relação de intensidades intrínsecas, δ_a/δ_h . No exemplo considerado, os valores de intensidade relativa da banda atribuída à CAa são multiplicados por um factor de 1.32.

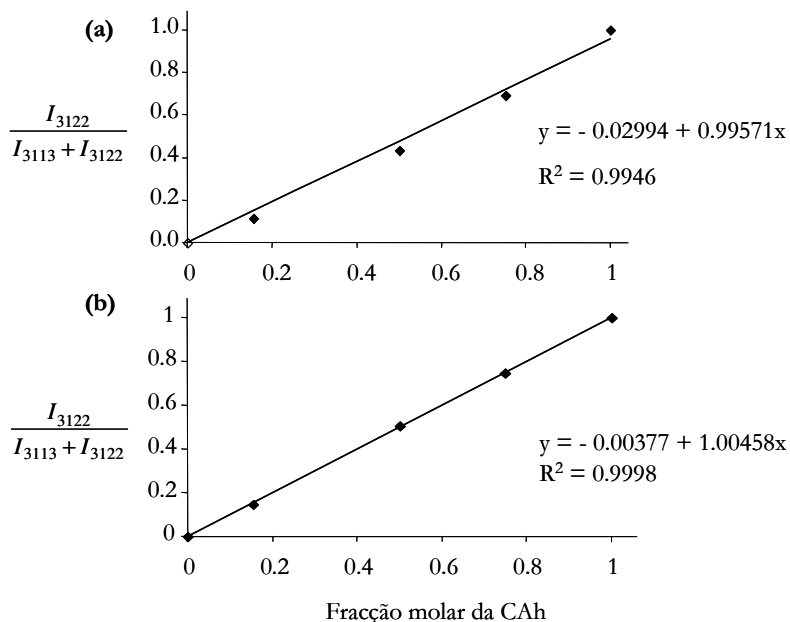


Figura V.5 – Procedimento de calibração, realizado na região espectral 3075-3155 cm^{-1} , de misturas físicas com fracções molares de cafeína hidratada (CAh) iguais a 0.0, 0.155, 0.500, 0.751 e 1. (a) Ajuste linear sem considerar o factor de correcção; (b) Ajuste linear considerando o factor de correcção 1.32.

Este procedimento de calibração foi efectuado para as restantes regiões espectrais (1580-1620 cm^{-1} e 1270-1310 cm^{-1}), e os resultados obtidos encontram-se estabelecidos na Tabela V.2.

Tabela V.2 – Resultados obtidos na calibração das várias misturas físicas (CAa + CAh) com fracções molares conhecidas.

Região espectral	Modo vibracional ^[a]	CAa (cm^{-1})	CAh (cm^{-1})	b ^[b]	s _b ^[b]	a ^[b]	R ² ^[b]	$\frac{\delta_{CAa}}{\delta_{CAh}}$ ^[b]
3075 – 3155 cm^{-1}	ν_{C_8-H}	3113	3122	1.0046	0.0121	-0.0038	0.9998	1.32
1580 – 1620 cm^{-1}	$\nu_{C(4)=C(5)}$	1600	1605	0.9781	0.0421	0.0172	0.9976	1.28
1270 – 1310 cm^{-1}	$\nu_{CC}+\nu_{CN}$	1285	1290	0.9568	0.0679	0.0229	0.9941	0.90

[a] Atribuições de acordo com o trabalho realizado no Capítulo IV; ν = elongação e α = deformação;

[b] b = declive; s_b = desvio padrão do declive; a = intercepção da recta de regressão linear no eixo do y;

R² = coeficiente de correlação; δ_{CAh} = intensidade intrínseca do modo vibracional em análise considerando a forma hidratada; δ_{CAa} = intensidade intrínseca do modo vibracional em análise considerando a forma anidra.

Na Figura V.6. são comparados os espectros de Raman da CAa (linha a cheio) e CAh (linha a tracejado) nas regiões espectrais consideradas, tendo já em conta a relação de intensidades intrínsecas, δ_a/δ_h , determinada.

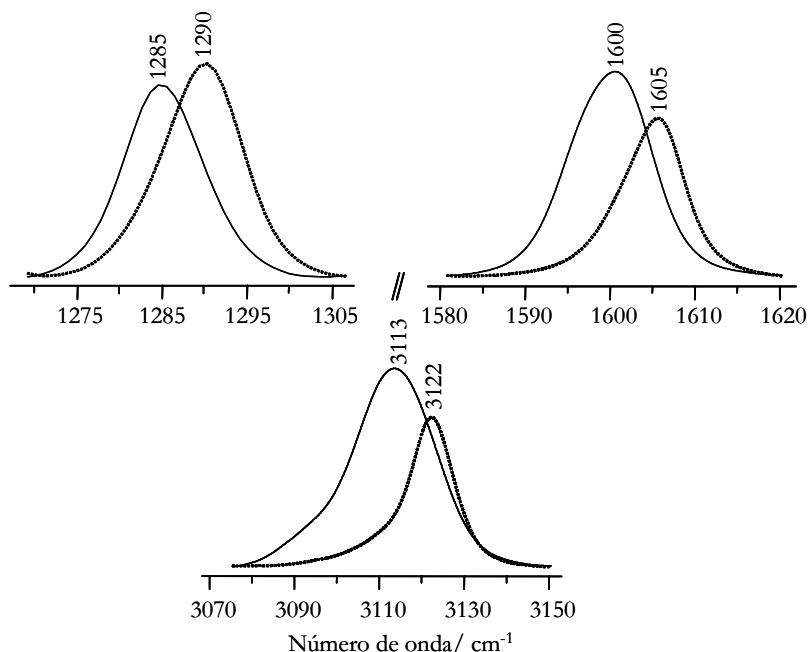


Figura V.6 – Comparação dos espectros FT-Raman da cafeína anidra (CAa, linha a cheio) e da cafeína hidratada (CAh, linha a tracejado) nas regiões espectrais 3075-3155 cm^{-1} , 1580-1620 cm^{-1} e 1270-1306 cm^{-1} . As intensidades das bandas estão corrigidas de acordo com o factor de correcção calculado.

V.2.2.2 – Teofilina

Na Tabela V.3 estão apresentados os resultados obtidos na calibração realizada para o sistema TP, nas regiões espectrais 3060-3160 cm^{-1} , 900-940 cm^{-1} e 650-685 cm^{-1} .

Tabela V.3 – Resultados obtidos na calibração das várias misturas físicas (TPa + TPh) com fracções molares conhecidas.

Região espectral	Modo vibracional ^[a]	TPa (cm^{-1})	TPh (cm^{-1})	b ^[b]	s _b ^[b]	a ^[b]	R ² ^[b]	$\frac{\delta_{TPa}}{\delta_{TPh}}$ ^[b]
3060 – 3160 cm^{-1}	$\nu_{\text{C}_8\text{-H}}$	3123	3109	1.0075	0.04	0.0002	0.99	0.5
900 – 940 cm^{-1}	$\alpha_{\text{imidazole}}$	928	918	0.9829	0.03	-0.0137	0.99	0.3
650 – 685 cm^{-1}	$\alpha_{\text{pirimidina}}$	668	674	0.9504	0.03	-0.0109	0.99	0.5

[a] Atribuições de acordo com o trabalho realizado no Capítulo IV; ν = elongação e α = deformação;

[b] b = declive; S_b = desvio padrão do declive; a = intercepção da recta de regressão linear no eixo do y;

R² = coeficiente de correlação; δ_{TPh} = intensidade intrínseca do modo vibracional em análise considerando a forma hidratada; δ_{TPa} = intensidade intrínseca do modo vibracional em análise considerando a forma anidra.

Na Figura V.7. são comparados os espectros de Raman da TPa (linha a cheio) e TPh (linha a tracejado) nas regiões espectrais consideradas, tendo já em conta a relação de intensidades intrínsecas, δ_a/δ_h , determinada.

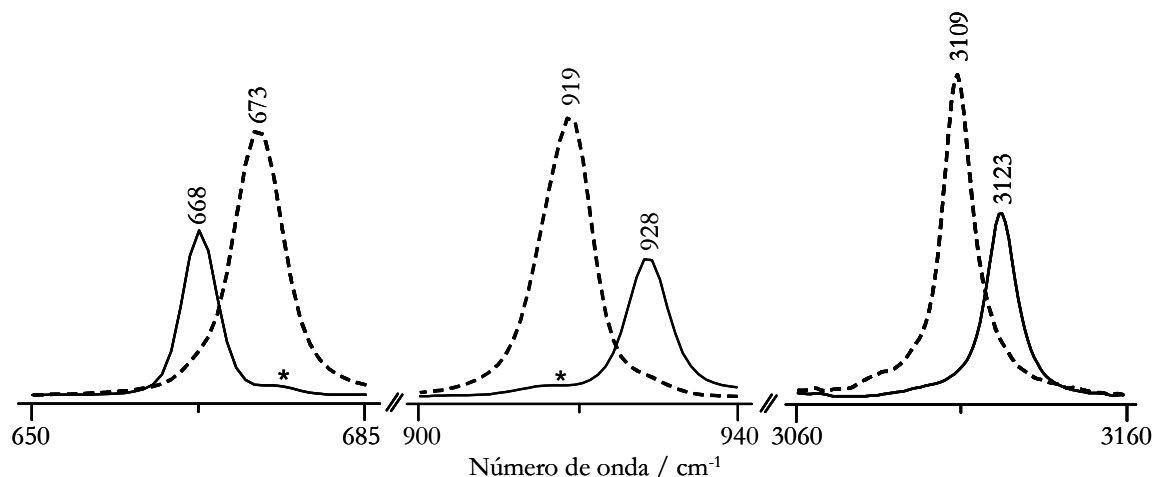


Figura V.7 – Comparação dos espectros FT-Raman da teofilina anidra (TPa, linha a cheio) e da teofilina hidratada (TPh, linha a tracejado) nas regiões espectrais 650-685 cm^{-1} , 900-940 cm^{-1} e 3060-3160 cm^{-1} . As intensidades das bandas estão corrigidas de acordo com o factor de correcção calculado. O asterisco indica a presença de bandas atribuídas a uma forma metastável da teofilina (TPm).

As regiões espectrais 900-940 cm^{-1} e 650-685 cm^{-1} , apresentam, no espectro de Raman da TPa comercial (TPa), a presença de uma banda de pequena intensidade na região atribuída à banda da TPh e que está indicada, na Figura V.7, por um asterisco. A presença desta banda pode ser explicada pela presença de uma pequena contaminação da amostra da TPa com TPh ou com uma forma anidra metastável, TPm, monotrópica em relação à TPa^{9,23,25,69} e que é conhecida por se formar durante desidratações com baixas temperaturas de secagem (este assunto será discutido posteriormente na Secção V.2.5.2). A comparação das intensidades relativas destas bandas não é consistente com a presença de alguma quantidade de TPh, pelo que essa banda de pequena intensidade foi atribuída à forma TPm. Os ajustes lineares apresentados na Tabela V.3 são melhorados quando se procede à subtracção desta banda à intensidade total da banda atribuída à TPh.

V.2.3 – Transição anidro \rightarrow hidrato: determinação do mecanismo

De maneira a elucidar o mecanismo envolvido nos processos de hidratação da CAa e TPa, foram realizados estudos cinéticos em ambos os sistemas.

V.2.3.1 – *Caféina*

A Figura V.8a apresenta as variações sequenciais do espectro de Raman observadas nas regiões de elongação dos osciladores C-C e C-N ($1270-1310\text{ cm}^{-1}$, $\nu_{CC}+\nu_{CN}$) de amostras de CAa expostas a humidade relativa de 100 % (RH=100%) durante diferentes intervalos de tempo e à temperatura ambiente de 22 °C (Figura V.8a). Adicionalmente, é incluída a representação da fracção de hidratação (α_h , %) em função do tempo (expresso em minutos) de exposição a condições de RH=100 % (Figura V.8b). As regiões espectrais de elongação $\nu_{C(8)-H}$ ($3075-3155\text{ cm}^{-1}$) e $\nu_{C(4)=C(5)}$ ($1580-1620\text{ cm}^{-1}$) apresentam bandas com intensidades dependentes do tempo de exposição com comportamentos semelhantes.

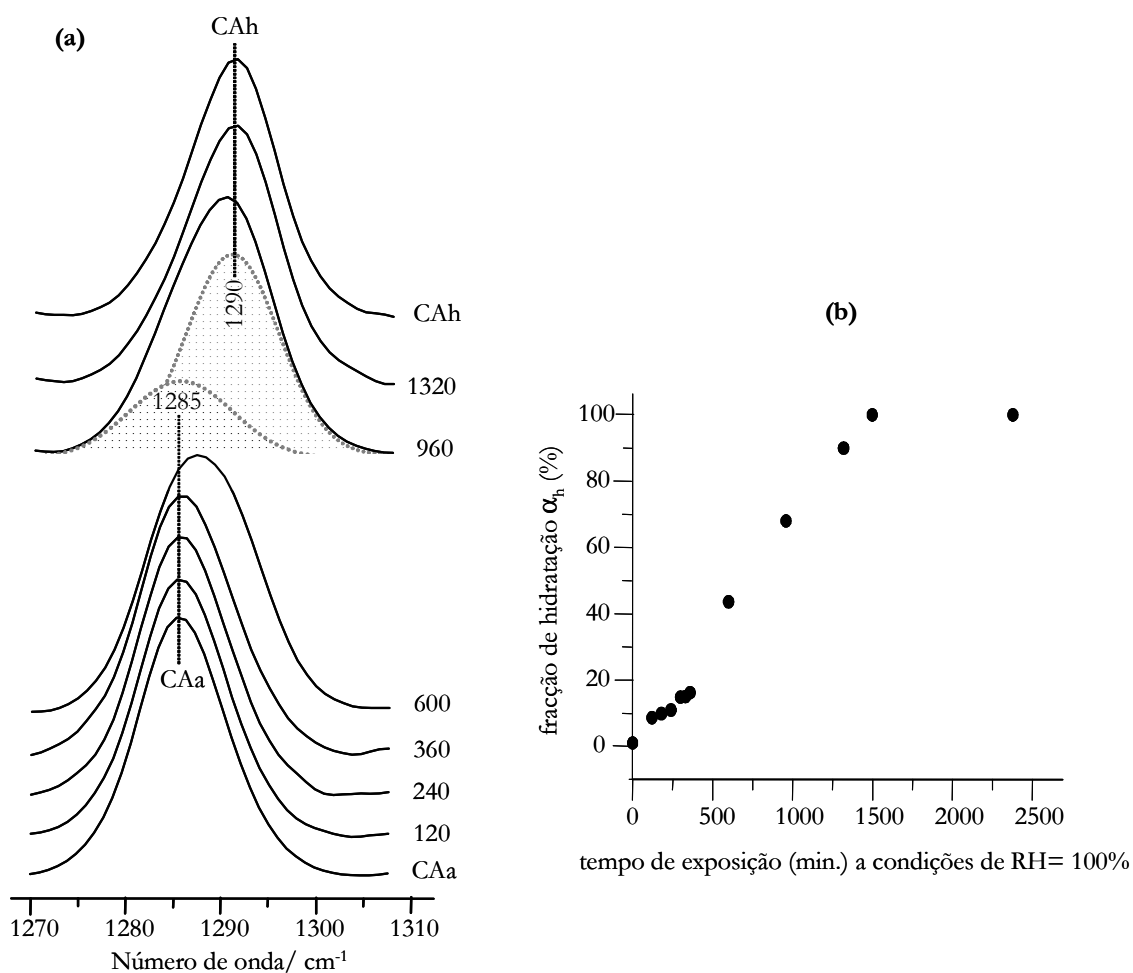


Figura V.8 – (a) Espectros FT-Raman, na região compreendida entre $1270-1310\text{ cm}^{-1}$, da caféina anidra (CAa) e (b) representação da fracção de hidratação (α_h , %), ambos (a) e (b) em função do tempo (expresso em minutos) de exposição a condições de RH=100 % e à temperatura ambiente de 22°C. Adicionalmente (Figura V.8a, a tracejado) é incluída uma exemplificação do processo de ajuste de bandas (banda obtida com 960 minutos de exposição), necessário para o cálculo da fracção de hidratação (α_h).

Pela análise da Figura V.8a, verifica-se, embora de uma maneira muito subtil e detectável apenas pelo ajuste de bandas, que as primeiras evidências da transição pseudopolimórfica CAa \rightarrow CAh ocorrem depois de 120 minutos de exposição às condições de RH=100%, verificando-se a hidratação completa ao final de 1500 minutos (situação representada na Figura V.8a como CAh).

Na determinação da fracção de hidratação é necessário proceder-se ao ajuste de bandas. Tomando como exemplo a banda observada no espectro FT-Raman de uma amostra de CAa exposta durante 960 minutos a condições de RH=100%, verifica-se, pelo ajuste de bandas, a obtenção de duas bandas com máximos a 1285 cm^{-1} e 1290 cm^{-1} com respectivas intensidades de 4.0266 (intensidade da banda correspondente à forma anidra, I_a) e 9.4982 (intensidade da banda correspondente à forma hidratada, I_h). Tendo em conta o factor de correcção determinado pelos estudos de calibração para este par de bandas (ver Tabela V.2) e aplicando a equação (2), obtém-se uma fracção de hidratação de 68 %. Este procedimento foi efectuado para as restantes bandas observadas a diferentes tempos de exposição (Figura V.8a) tendo-se obtido o gráfico representado na Figura V.8b.

De maneira a elucidar a natureza do mecanismo envolvido no processo de hidratação da CAa, os valores de fracção de hidratação (α_t), calculados para as várias regiões espectrais consideradas, foram ajustados a diferentes modelos cinéticos (ver Tabela V.1). Considerando que a qualidade do ajuste linear é determinada pela utilização de ambos os valores R^2 e S_b , verificou-se que, para as três regiões consideradas, o mecanismo (de um só passo) de nucleação aleatória Avrami-Erofeev ($n=0.5$) (modelo M9) com uma constante de velocidade de 0.00114 min^{-1} é o que melhor descreve os resultados do processo de hidratação da CAa (Tabela V.4).

Tabela V.4 – Valores da constante de velocidade de hidratação (k), desvio padrão do declive (S_b), coeficiente de correlação (R^2) e tempos de meia hidratação ($t_{1/2}$) e de hidratação completa (t_h), obtidos com os melhores ajustes lineares ($f(\alpha)$) estabelecidos para a cafeína anidra (CAa) nas três regiões espectrais consideradas.

Região espectral	Modelo cinético ^[a]	$f(\alpha)$	S_b	R^2	$k\text{ (min}^{-1}\text{)}$	$t_{1/2}^{\text{[b]}}\text{ (min)}$	$t_h^{\text{[c]}}\text{ (min)}$
3075-3155 cm^{-1}	M9	$-0.08225+0.00126t$	0.00011	0.9889	0.00126	726	2758
1580-1620 cm^{-1}	M9	$-0.04241+0.00110t$	0.00008	0.9725	0.00110	796	3123
1270-1310 cm^{-1}	M9	$0.07924+0.00107t$	0.00005	0.9867	0.00107	704	3097

[a] Modelo cinético descrito na Tabela V.1;

[b] Tempo de meia hidratação $f(\alpha)$ para $\alpha=0.5$ igual a 0.833 (considerando modelo cinético M9);

[c] Tempo de hidratação total $f(\alpha)$ para $\alpha=0.99999$ igual a 3.393 (considerando modelo cinético M9).

Os resultados obtidos na Tabela V.4 apontam para a hidratação da CAa através de um processo de um só passo com tempos de meia-hidratação e hidratação completa de aproximadamente 742 minutos (≈ 12 horas) e 2993 minutos (≈ 50 horas).

V.2.3.2 – Teofilina

A Figura V.9 apresenta as variações sequenciais do espectro de Raman observadas nas regiões dos modos de deformação no plano dos anéis imidazole ($900-940\text{ cm}^{-1}$, $\alpha_{\text{imidazole}}$) e pirimidina ($650-685\text{ cm}^{-1}$, $\alpha_{\text{pirimidina}}$) de amostras de TPa expostas RH=100% durante diferentes intervalos de tempo e à temperatura ambiente de 22 °C. A região espectral de elongação $\nu\text{C}_{(8)}\text{-H}$ ($3060-3160\text{ cm}^{-1}$) apresenta bandas com intensidades dependentes do tempo de exposição com um comportamento semelhante.

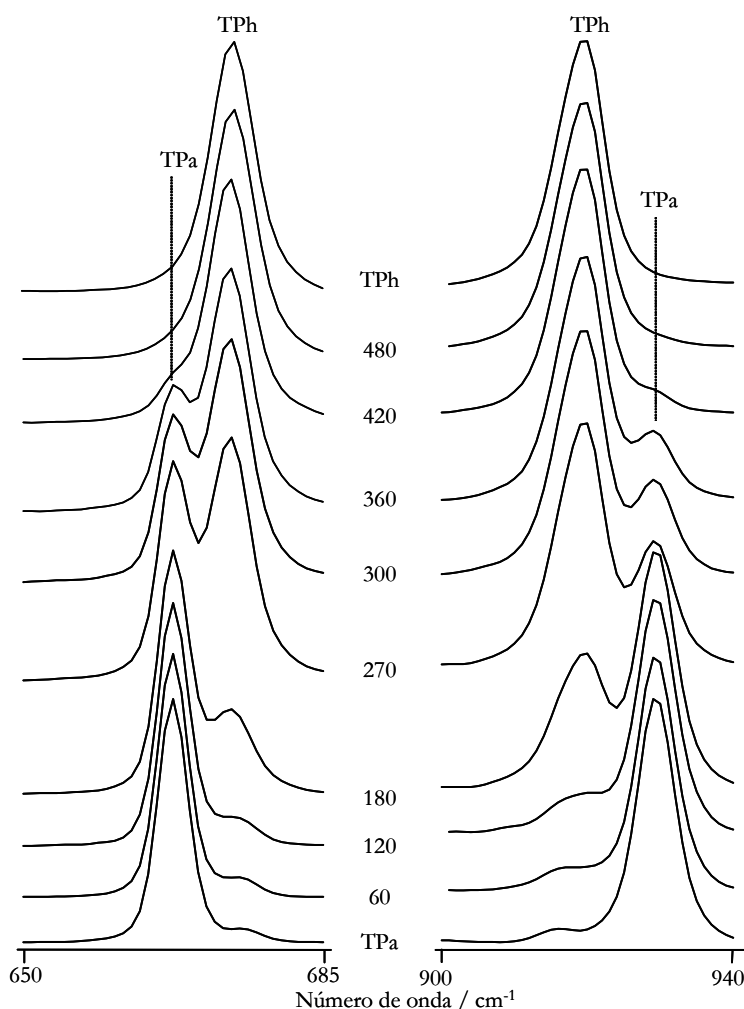


Figura V.9 – Espectros FT-Raman, nas regiões compreendidas entre $650-685\text{ cm}^{-1}$ e $900-940\text{ cm}^{-1}$, da teofilina anidra (TPa) em função do tempo (expresso em minutos) de exposição a condições de RH=100 %.

As primeiras evidências da transição pseudopolimórfica TPa \rightarrow TPh são detectáveis apenas com 60 minutos de exposição às condições de RH=100%. Por sua vez, com 360 minutos (6h) de exposição, a banda atribuída à forma TPa tem apenas a forma de um pequeno ombro, que desaparece ao final de 480 minutos (8h) de exposição. Tempos superiores de exposição não originaram nenhuma alteração detectável visualmente, embora um bom ajuste de bandas evidencie a presença de pequenas quantidades de TPa (aproximadamente 1%), mesmo depois de 600 minutos (10h) de exposição.

Na Figura V.10a estão representados graficamente os valores obtidos para a fracção de hidratação α_h (obtidos para as três regiões espectrais e de acordo com o procedimento exemplificado no sistema CAa) em função do tempo de exposição. Os valores obtidos por determinação gravimétrica do teor total de água (x_h) estão também incluídos.

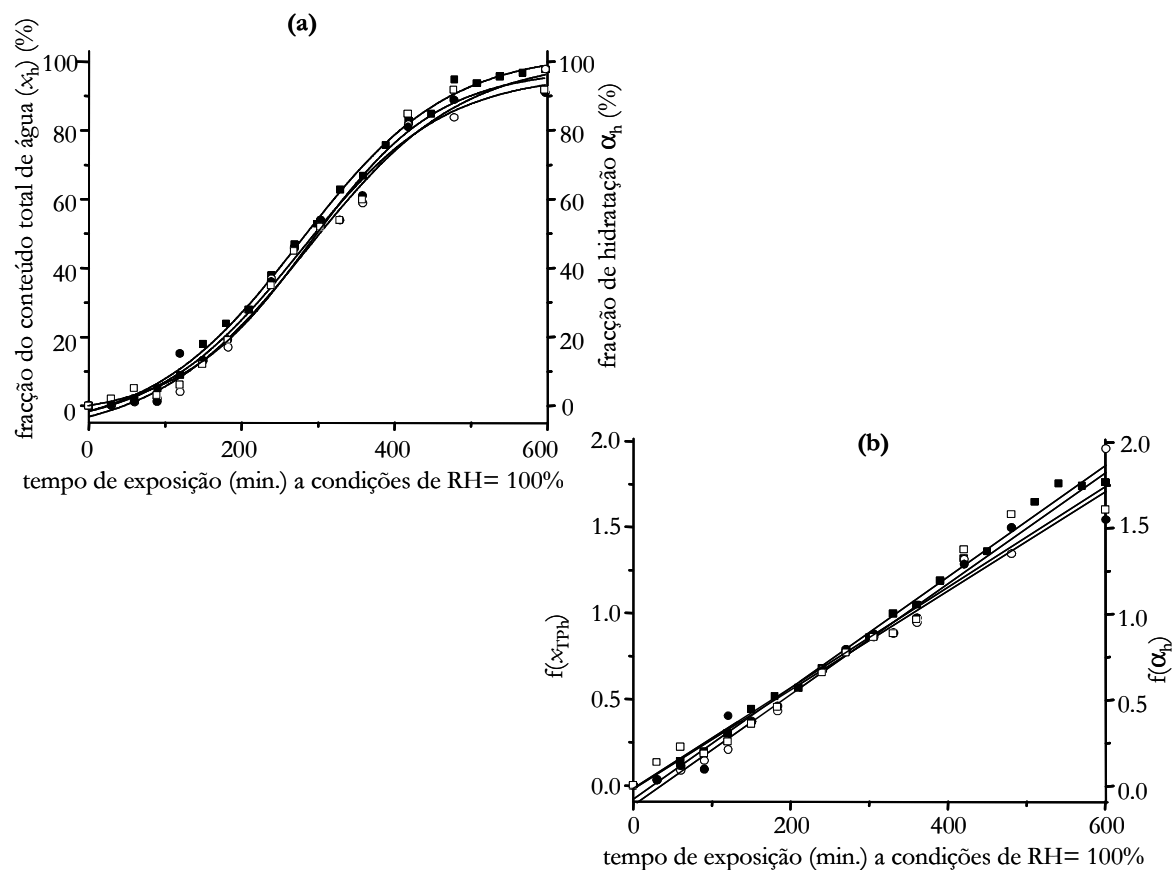


Figura V.10 – Dados cinéticos do processo de hidratação da teofilina anidra (TPa), obtidos por determinação gravimétrica do teor total de água (x_h , quadrados pretos) e ajuste de bandas (α_h), nas regiões espectrais 3060-3160 cm^{-1} (círculos brancos), 650-685 cm^{-1} (círculos pretos) e 900-940 cm^{-1} (quadrados brancos): (a) representação gráfica da fracção do conteúdo total de água (x_h) e da fracção de hidratação (α_h) em função do tempo (expresso em minutos) de exposição a condições de RH=100 %; (b) ajuste dos valores de x_h e α_h à equação do mecanismo de nucleação aleatória Avrami-Erofeev ($n=0.5$).

Como se pode verificar, os resultados obtidos pelas duas técnicas apresentam uma boa concordância. Os valores obtidos para a fracção de hidratação (α_h) e para a fracção do conteúdo total de água (x_h) seguem curvas sigmoidais muito similares (Figura V.10a).

Os valores obtidos para α_h e x_h foram ajustados a diferentes modelos cinéticos, (enumerados na Tabela V.1), tendo-se verificado que, para todas as situações, a descrição mais correcta para o processo de hidratação da TPa é estabelecida de acordo com um mecanismo de nucleação aleatória Avrami-Erofeev ($n=0.5$) (Figura V.10b). Na Tabela V.5 estão apresentados os resultados cinéticos obtidos no processo de hidratação da TPa, pela utilização de análise gravimétrica e espectroscopia de Raman.

Tabela V.5 – Valores da constante de velocidade de hidratação (k), desvio padrão do declive (S_b), coeficiente de correlação (R^2) e tempos de meia hidratação ($t_{1/2}$) e de hidratação completa (t_h), obtidos com os melhores ajustes lineares ($f(\alpha)$) estabelecidos para a teofilina anidra (TPa) nas três regiões espectrais consideradas e nas medições do teor de água. Os resultados obtidos com o ajuste linear dos valores da fracção do conteúdo total de água (x_h) em função do tempo de exposição a condições de RH=100%, estabelecidos por pesagem de massas, estão incluídos na última linha. Os valores experimentais de $t_{1/2}$ e t_h , inferidos a partir de literatura disponível, estão também incluídos.

Região espectral	Modelo cinético ^[a]	$f(\alpha)$	s_b	R^2	k (min ⁻¹)	$t_{1/2}$ ^[b] (min)	t_h ^[c] (min)
3060-3160 cm ⁻¹	M9	-0.11034+0.00322t	0.00012	0.9847	0.00322	292	1087
	M10	0.07016+0.00258t	0.00009	0.9851	0.00258	314	849
900-940 cm ⁻¹	M9	-0.02822+0.00294t	0.00016	0.9697	0.00294	292	1163
	M10	0.15604+0.00233t	0.00014	0.9624	0.00233	311	903
650-685 cm ⁻¹	M9	-0.04071+0.00291t	0.00014	0.9754	0.00291	299	1179
Determinação do teor de água	M9	-0.08399+0.00329t	0.00010	0.9856	0.00329	278	1056
	M10	0.20171+0.00231t	0.00008	0.9815	0.00231	294	891
Referência ³⁰ ^[d]						≈ 580	≈ 890
Referência ²⁷						≈ 1320	≈ 2700
						≈ 840	≈ 1980
Referência ²⁶ ^[f]						≈ 1047	≈ 2880

[a] Modelo cinético descrito na Tabela V.1;

[b] Tempo de meia hidratação $f(\alpha)$ para $\alpha=0.5$ igual a 0.83 e 0.88 (considerando modelo cinético M9 e M10, respectivamente);

[c] Tempo de hidratação total $f(\alpha)$ para $\alpha=0.99999$ igual a 3.39 e 2.26 (considerando modelo cinético M9 e M10, respectivamente);

[d] Valor inferido a partir da Figura 1 da referência³⁰; absorção e adsorção de vapor a um RH de 95%, depois de feita a desidratação da TPh a 25 °C;

[e] Valor inferido a partir da Figura 3 da referência²⁷; análise gravimétrica e microcalorimétrica, depois de feita a desidratação da TPh a 110 °C;

[f] Valor inferido a partir da Figura 5 da referência²⁶; determinação do teor de água a um RH de 95 %, depois de feita a desidratação da TPh a 95 °C.

Adicionalmente, verificou-se que a metodologia usada na preparação destas amostras foi adequada, permitindo assim fornecer parâmetros cinéticos que não são influenciados pelo peso da amostra, pelo menos na gama considerada (60 a 119 mg).

Os valores obtidos para o desvio padrão do declive (S_b) e para o coeficiente de correlação (R^2) nos modelos cinéticos M9 e M10 são muito similares. No entanto, assumiu-se que o modelo M9 fornece uma melhor descrição dos resultados no conjunto geral, isto é, nas três regiões espectrais consideradas e nas medições gravimétricas do conteúdo total de água. Considerando este pressuposto, o processo de hidratação da TPa é um mecanismo (de um só passo) de nucleação aleatória Avrami-Erofeev ($n=0.5$) com uma constante de velocidade de 0.003 min^{-1} . Os resultados obtidos por análise gravimétrica apontam para um tempo de meia-hidratação ($t_{1/2}$) de aproximadamente 276 minutos. Por outro lado, de acordo com os resultados obtidos por espectroscopia de Raman, a meia-hidratação é verificada após 292-299 minutos de exposição. Adicionalmente, enquanto que os resultados gravimétricos indicam a hidratação completa da TPa após aproximadamente 1064 minutos de exposição, os resultados de FT-Raman fornecem valores no intervalo 1088-1180 minutos.

Diferentes parâmetros cinéticos para o processo de hidratação da TPa, nomeadamente tempos de meia-hidratação ($t_{1/2}$) e hidratação completa (t_h) têm sido apresentados na literatura^{26,27,30}, como se pode constatar nas últimas linhas da Tabela V.5. Os resultados aqui apresentados e discutidos diferem significativamente de todos os outros valores publicados. Estas discrepâncias podem ser explicadas de várias maneiras. A explicação mais evidente é associada às diferentes “histórias” das amostras de TPa utilizadas. Por exemplo, as amostras de TPa utilizadas neste trabalho eram amostras de TP comercial, enquanto que, nos restantes trabalhos, as amostras de TPa são obtidas por desidratação da TPh, situação que pode originar amostras significativamente diferentes (por exemplo em termos do tamanho de grão e defeitos de cristal). De facto, foi demonstrado que as dimensões das partículas afectam significativamente a velocidade de hidratação da TPa^{32,39}, enquanto que os autores *Ono e col.*³⁷ verificaram que o aumento da temperatura de desidratação diminui a velocidade de absorção de água.

As duas quantidades cinéticas $t_{1/2}$ e t_h (Tabela V.5) indicam a existência de um pequeno tempo de retardamento, de aproximadamente 15-20 minutos, entre a absorção de água e a observação das alterações espectrais devidas à hidratação. Este tempo de retardamento é facilmente explicado pelos dois fenómenos envolvidos no processo de hidratação da TPa: primeiramente, as moléculas de água adsorvem à superfície da amostra, e difundem-se entre

moléculas de TP, levando à formação de canais de água, iniciando-se assim a conversão “real” $\text{TPa} \rightarrow \text{TPh}$. As medições gravimétricas não estabelecem a distinção entre águas “estruturais” e “adsorvidas à superfície”, enquanto que as regiões espectrais seleccionadas do espectro de Raman são apenas sensíveis às alterações estruturais subjacentes à transformação pseudopolimórfica $\text{TPa} \rightarrow \text{TPh}$.

V.2.4 – Transição anidro \rightarrow hidrato: determinação da humidade relativa crítica

Uma determinada forma anidra pode ser estável abaixo de um certo valor de humidade relativa (humidade relativa crítica) mas a valores superiores é possível que se converta numa forma hidratada. Dado que a humidade relativa crítica tem implicações práticas no processamento, formulação e armazenamento torna-se importante determinar esse valor.

V.2.4.1 – Caféina

A Figura V.11a apresenta os espectros FT-Raman, na região 3075-3155 cm^{-1} , obtidos com amostras de CAa expostas, durante 1 semana, a ambientes com diferentes humidades relativas (%RH) e à temperatura de 22°C.

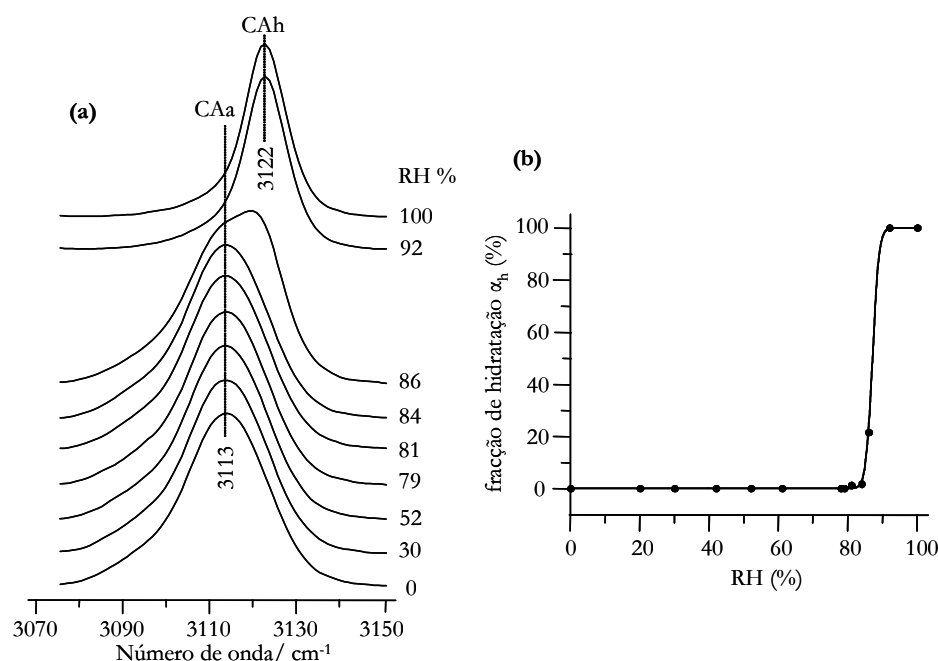


Figura V.11 – (a) Espectros FT-Raman, na região compreendida entre 3075-3155 cm^{-1} , da caféina anidra (CAa) e (b) representação da fracção de hidratação (α_h , %), ambos (a) e (b) em função de diferentes humidades relativas (%RH) e à temperatura ambiente de 22°C.

O comportamento observado nesta região espectral verifica-se também nas restantes regiões espectrais consideradas. Adicionalmente, é incluída na Figura V.11 a representação da fracção de hidratação (α_h , %) em função das diferentes humidades relativas (%RH) (Figura V.11b).

As alterações espectrais que evidenciam a presença da forma CAh verificam-se apenas para valores de RH superiores a 81%, enquanto que a valores de RH=92% já não se verifica a presença de CAa. Os valores da fracção de hidratação das amostras expostas a RH=81, 84, 86 e 92% são respectivamente, 0.013, 0.017, 0.216 e 1. Estes resultados indicam que a CAa apresenta uma baixa higroscopicidade ao longo de um amplo intervalo de valores de RH, verificando-se a conversão CAa \rightarrow CAh numa gama muito restrita de valores de RH.

V.2.4.2 – Teofilina

No caso da TPa, o valor obtido para a humidade relativa crítica é controverso e valores que variam na gama 25%-82% (a temperaturas aproximadas de 25°C) têm sido apresentados na literatura^{26,29,70}. A Figura V.12a apresenta os espectros FT-Raman, na região 3060-3160 cm⁻¹, obtidos com amostras de TPa expostas, durante 1 semana, a ambientes com diferentes humidades relativas (%RH) e à temperatura de 22°C. O comportamento observado nesta região espectral verifica-se também nas restantes regiões espectrais consideradas. A representação da fracção de hidratação (α_h , %) em função das diferentes humidades relativas (%RH), obtida nesta região espectral, está apresentada na Figura V.12b.

A presença da forma TPh verifica-se apenas para valores de RH superiores a 79%, enquanto que a valores de RH=86% já não se verifica a presença de TPa. Os valores da fracção de hidratação (α_h) das amostras expostas a RH=81% e RH= 84% são respectivamente, 0.23 e 0.86. Estes resultados estão em boa concordância com os obtidos por Otsuka e col.²⁶ num estudo sistemático temporal das transições pseudopolimórficas da TPa expostas a diferentes condições de RH por um período de tempo superior a 10 dias, realizado por pesagem de amostras.

Os resultados apresentados para a TPa indicam que este sistema possui uma baixa higroscopicidade ao longo de um amplo intervalo de valores de RH, verificando-se a conversão TPa \rightarrow TPh numa gama muito restrita de valores de RH.

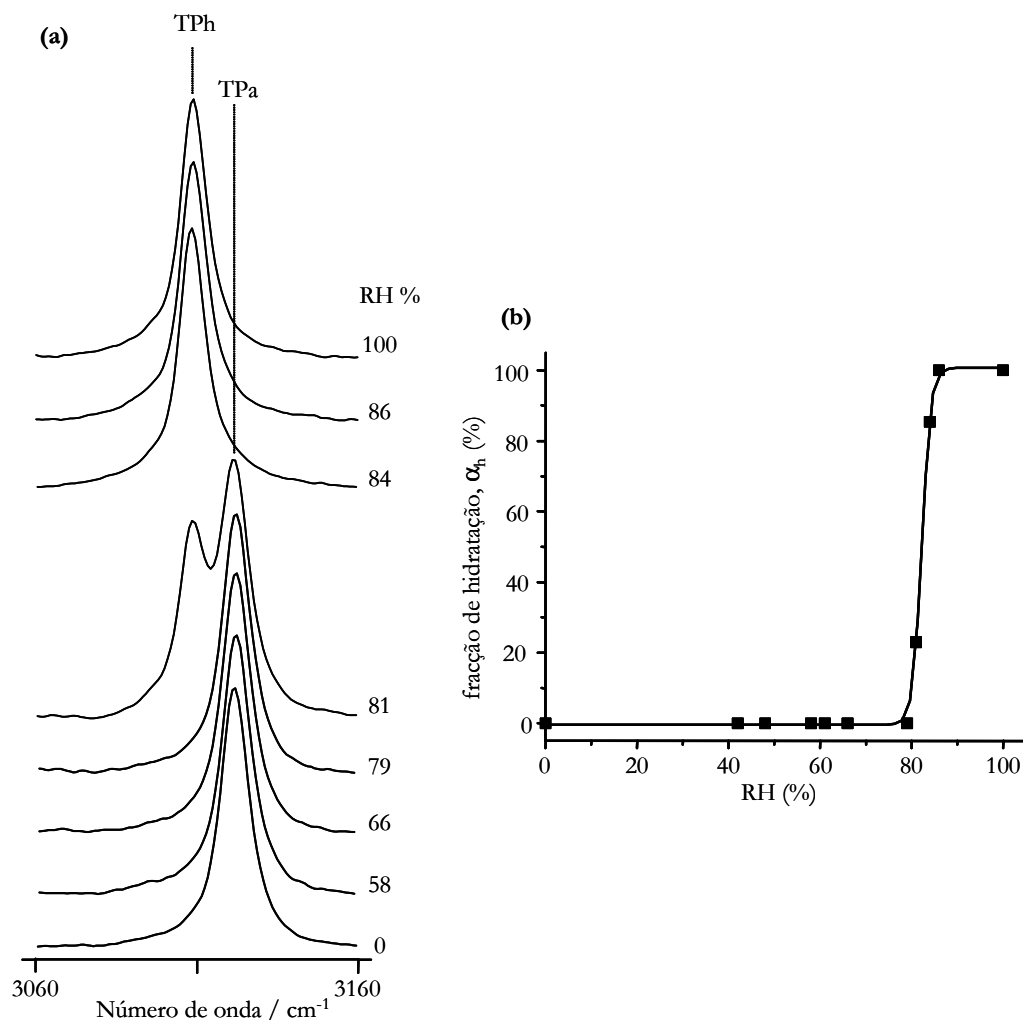


Figura V.12 – (a) Espectros FT-Raman, na região compreendida entre 3060-3160 cm⁻¹, da teofilina anidra (TPa) e (b) representação da fracção de hidratação (α_h , %), ambos (a) e (b) em função de diferentes humidades relativas (%RH) e à temperatura ambiente de 22°C.

V.2.5 – Transição hidrato → anidro: determinação do mecanismo

V.2.5.1 – Cafeína

Na Figura V.13a estão representados os espectros FT-Raman, na região 3075-3155 cm⁻¹, obtidos com amostras de CAh armazenadas a diferentes temperaturas, nomeadamente 60°C (Figura V.13a – parte superior) e 45°C (Figura V.13a – parte inferior), durante diferentes intervalos de tempo.

Adicionalmente, estão incluídas as representações da fracção de desidratação (α_a , %) em função dos diferentes intervalos de tempo, para cada temperatura considerada. O

comportamento observado nesta região espectral verifica-se também nas restantes regiões espectrais consideradas ($1270\text{-}1310\text{ cm}^{-1}$ e $1580\text{-}1620\text{ cm}^{-1}$).

O processo de desidratação da CAh a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ é bastante rápido. De facto, a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ verifica-se, com apenas 5 minutos de armazenamento, um valor de $\alpha_a = 70\%$, enquanto que o mesmo valor de α_a é obtido, a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, ao final de 20 minutos.

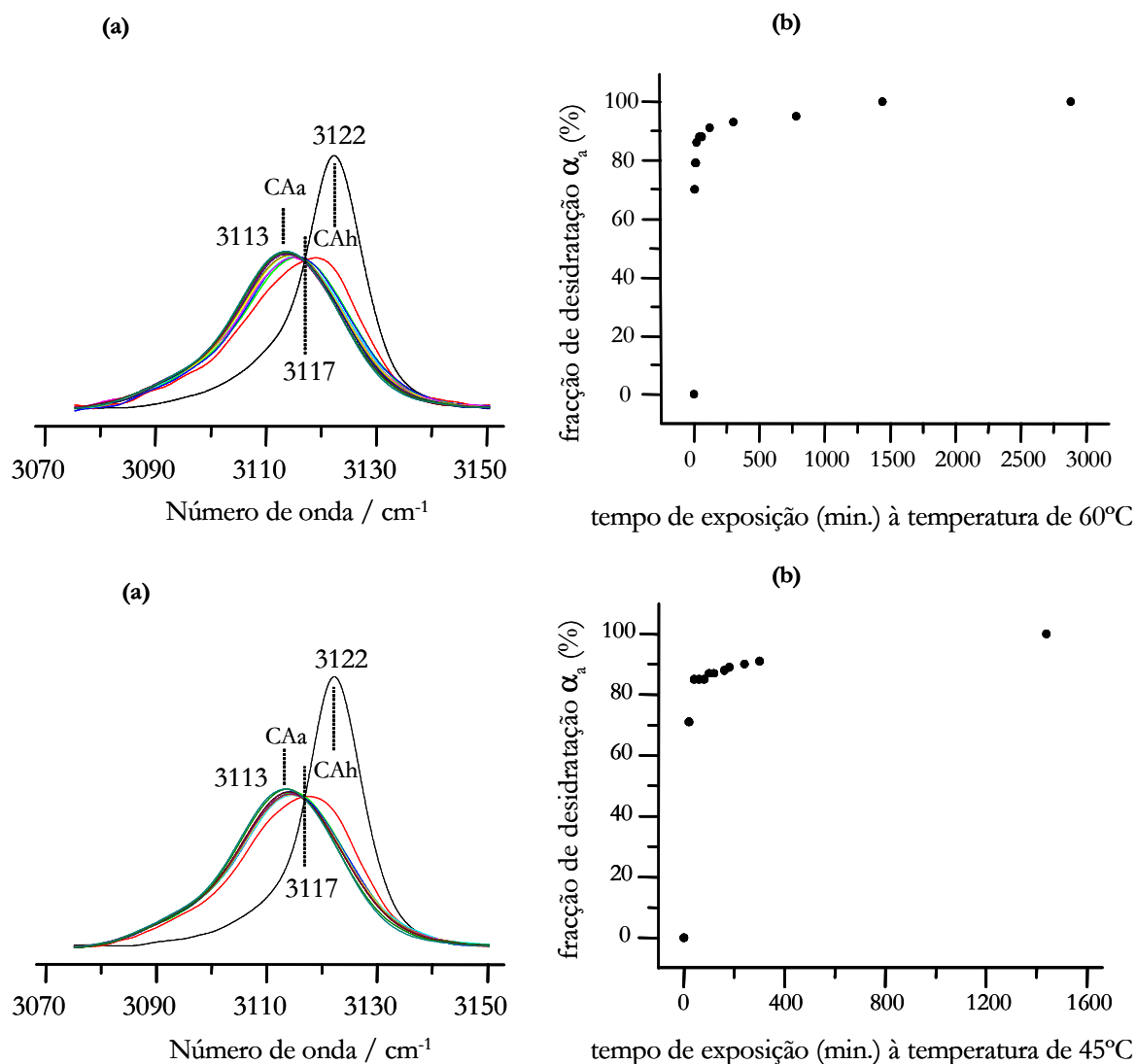


Figura V.13 – Resultados obtidos com amostras de cafeína hidratada (CAh) armazenadas a 60°C (parte superior) e 45°C (parte inferior). (a) Espectros FT-Raman, na região compreendida entre $3075\text{-}3155\text{ cm}^{-1}$, da cafeína hidratada (CAh) e (b) representação da fracção de desidratação (α_a , %), ambos (a) e (b) em função de diferentes intervalos de tempo. Adicionalmente, verifica-se a presença de um ponto pseudo-isobástico a aproximadamente 3117 cm^{-1} .

No entanto, quando se considera a desidratação da CAh a 35 °C (Figura V.14b), o valor de $\alpha_a = 70\%$ apenas se verifica ao final de 100 minutos e ao final de 1440 minutos as amostras de CAh já estão completamente desidratadas (situação representada na Figura V.14a como CAa).

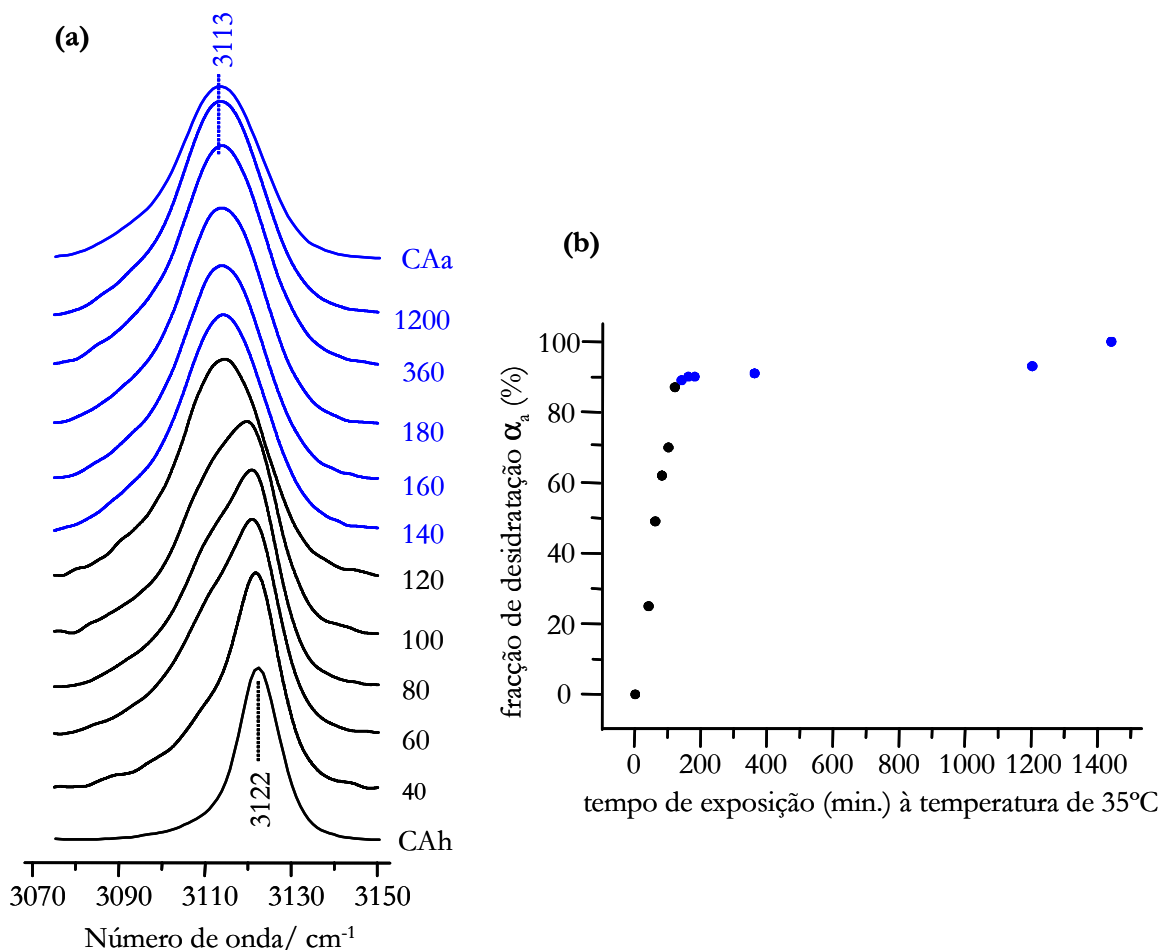


Figura V.14 – Resultados obtidos com amostras de cafeína hidratada (CAh) armazenadas a 35°C. (a) Espectros FT-Raman, na região compreendida entre 3075-3155 cm⁻¹, da cafeína hidratada (CAh) e (b) representação da fracção de desidratação (α_a , %), ambos (a) e (b) em função de diferentes intervalos de tempo.

Os resultados obtidos na desidratação da CAh a 35 °C, na região 3075-3155 cm⁻¹, sugerem a existência de um processo de desidratação em dois passos. O primeiro passo, mais rápido, verifica-se entre o início de armazenamento e os 120 minutos de armazenamento, enquanto que o segundo passo, inicia-se aos 140 minutos e prolonga-se até a desidratação completa. Esta situação é também verificada nas restantes regiões espectrais.

Os valores da fracção de desidratação (α_a), calculados para as várias regiões espectrais (3075-3155 cm^{-1} , 1270-1310 cm^{-1} e 1580-1620 cm^{-1}), foram ajustados a diferentes modelos cinéticos. O mecanismo de ordem-zero (M13), com uma constante de velocidade de 0.0069 min^{-1} (Tabela V.6), é o que melhor descreve, nas três regiões espectrais consideradas, os resultados obtidos para o primeiro passo de desidratação da CAh.

Tabela V.6 – Valores da constante de velocidade de hidratação (k), desvio padrão do declive (S_b), coeficiente de correlação (R^2), obtidos com os melhores ajustes lineares ($f(\alpha)$) dos pontos obtidos no primeiro passo de desidratação da cafeína hidratada (CAh) a 35°C, nas três regiões espectrais consideradas.

Região espectral	Modelo cinético ^[a]	$f(\alpha)$	a	s_b	R^2	k (min^{-1})
3075-3155 cm^{-1}	M13	$0.00316+0.00729t$	0.00316	0.00060	0.9860	0.00729
1580-1620 cm^{-1}	M13	$0.01291+0.00676t$	0.01291	0.00083	0.9693	0.00676
1270-1310 cm^{-1}	M13	$0.03935+0.00665t$	0.03935	0.00081	0.9702	0.00665

[a] Modelo cinético descrito na Tabela V.1

Relativamente ao segundo passo, verificou-se que, para todas as regiões espectrais consideradas, a descrição mais correcta para o segundo passo da desidratação da CAh é estabelecida de acordo com um mecanismo de nucleação aleatória Mampel (M8) com uma constante de velocidade de 0.00050 min^{-1} (Tabela V.7).

Tabela V.7 – Valores da constante de velocidade de hidratação (k), desvio padrão do declive (S_b), coeficiente de correlação (R^2), obtidos com os melhores ajustes lineares ($f(\alpha)$) dos pontos obtidos no segundo passo de desidratação da cafeína hidratada (CAh) a 35°C, nas três regiões espectrais consideradas.

Região espectral	Modelo cinético ^[a]	$f(\alpha)$	a	s_b	R^2	k (min^{-1})
3075-3155 cm^{-1}	M8	$2.22437+0.000419t$	2.22437	0.0000483	0.9845	0.000419
1580-1620 cm^{-1}	M8	$2.22491+0.000548t$	2.22491	0.0000811	0.9747	0.000548
1270-1310 cm^{-1}	M8	$1.95314+0.000546t$	1.95314	0.0000837	0.9729	0.000546

[a] Modelo cinético descrito na Tabela V.1

V.2.5.2 – Teofilina

A Figura V.15 apresenta as curvas isotérmicas de dessorção de água, obtidas por análise gravimétrica, para a forma TPh a diferentes temperaturas, nomeadamente 35°C, 40°C, 47°C e 60°C, em função do tempo de armazenamento a uma determinada temperatura.

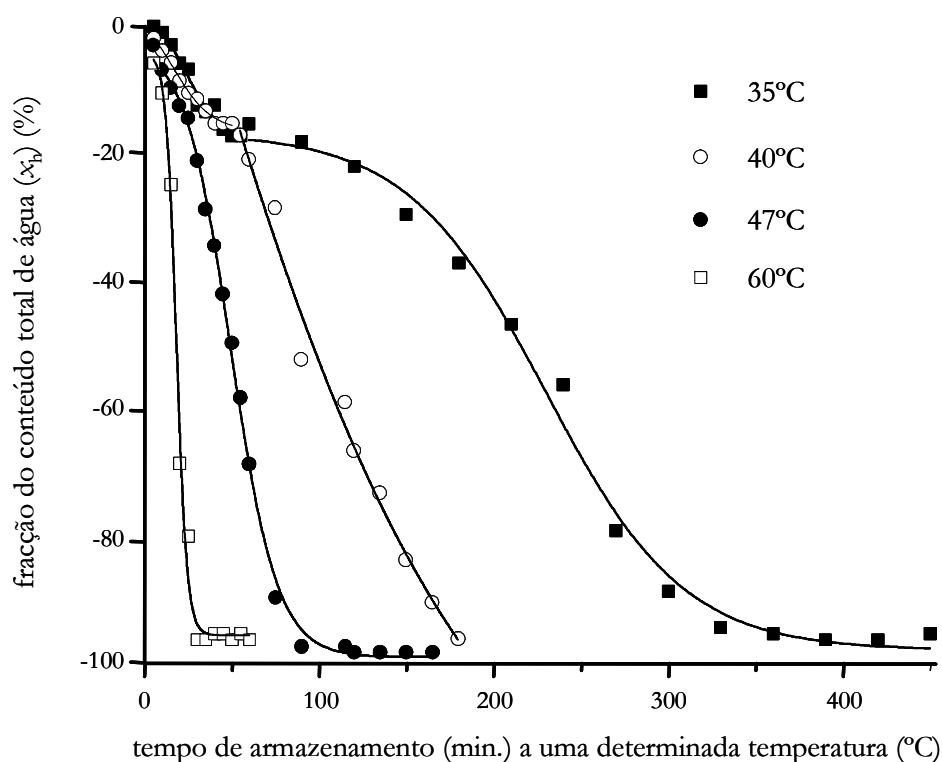


Figura V.15 – Curvas isotérmicas de desorção de água, obtidas por análise gravimétrica, para a forma teofilina hidratada (TPh) a diferentes temperaturas, nomeadamente 35°C, 40°C, 47°C e 60°C em função do tempo de armazenamento (em minutos).

A 60°C, a desidratação da TPh é completa após 30 minutos de armazenamento a essa temperatura, resultado que está em concordância com os obtidos em trabalhos anteriores^{9,32}. Como esperado, o tempo necessário para a desidratação completa aumenta à medida que a temperatura diminui, sendo na ordem de aproximadamente 120, 200 e 400 minutos, respectivamente a 47°C, 40°C, e 35°C.

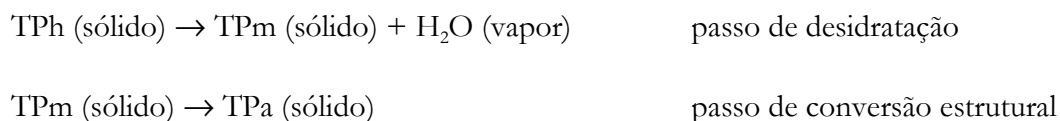
Em todas as curvas verifica-se a presença de um perfil “sigmoidal dupla”, com uma região na qual se verifica uma redução acentuada da velocidade de perda de massa, isto é, um “patamar”. Este patamar ocorre a aproximadamente 17% de perda de massa e torna-se consideravelmente evidente nos resultados obtidos a 35°C, mas é também detectável nas representações dos resultados obtidos com as restantes temperaturas. A existência de regiões com diferentes velocidades de desidratação evidencia a existência de processos de desidratação que envolvem vários passos. Apesar dos estudos realizados por *Shefter* e col.³⁴ e por *Agbada* e *York*³² indicarem que a desidratação da TPh ocorre por um processo que envolve um só passo, vários outros estudos sugerem a existência de um processo envolvendo dois passos,

dependendo das condições experimentais (nomeadamente temperatura de desidratação)^{9,33,35,36,69}. De facto, as condições experimentais são determinantes neste tipo de estudos. Por exemplo, *Duddu* e col.³³ concluíram que a desidratação da TPh a 47°C é um processo que envolve um só passo, enquanto que a desidratação a 40°C envolve dois passos distintos. Contudo, nesse trabalho foram utilizados períodos de tempo de 25 minutos para equilibrar a amostra, o que, de acordo com os resultados aqui apresentados, inclui o primeiro passo no processo de desidratação a 47°C.

As evidências da existência de um processo de desidratação da TPh envolvendo dois passos, são também observáveis por espectroscopia de Raman, dado que as alterações espectrais observadas acompanham os dois períodos observados nas curvas isotérmicas de dessorção de água, obtidas por análise gravimétrica, apresentadas na Figura V.15. De facto, para cada temperatura estudada, as primeiras evidências da presença da forma TPa verificam-se apenas após um período correspondente à finalização do “patamar” observado nas correspondentes curvas isotérmicas de dessorção de água. Esta situação indica que a transição TPh → TPa é atrasada relativamente ao início do processo de desidratação por aproximadamente, 120, 80, 20 e 15 minutos, quando as amostras são armazenadas, respectivamente, à temperatura de 35°C, 40°C, 47°C e 60°C.

Durante este intervalo de tempo, não são observáveis alterações nos espectros de Raman, apesar da perda de aproximadamente 17% do conteúdo de água das várias amostras. A única excepção é verificada na região 1215-1270 cm⁻¹, na qual é observado, durante o primeiro período de tempo e até à finalização do “patamar”, um fraco aumento de intensidade da banda centrada a aproximadamente 1231 cm⁻¹. Esta situação é inesperada, uma vez que era previsto esta banda desaparecer quando se passa da forma TPh para a forma TPa (espectro de Raman da TPa não apresenta esta banda). Com base nestas informações, esta banda foi atribuída à forma metastável (TPm), à semelhança de outras (conforme anteriormente evidenciado na Secção V.2.2.2 e no Capítulo IV)⁷¹.

No conjunto geral, os resultados obtidos pelas duas técnicas (análise gravimétrica e espectroscopia de Raman) são consistentes com um mecanismo de desidratação TPh → TPa envolvendo dois passos:



No primeiro passo, as amostras iniciam o processo de perda de água até perderem aproximadamente 17% do conteúdo total de água. Este passo origina uma forma metastável, que corresponde à espécie polimórfica de transição (TPm) que mantém as interações intermoleculares TPh...TPh existentes na estrutura da forma hidratada. Esta forma metastável retém as características estruturais principais da forma hidratada, o que permite explicar a quase inexistência de evidências espectrais, obtidas por espectroscopia de Raman, durante o período correspondente ao primeiro passo (os modos vibracionais em ambas as formas TPh e TPm ocorrem a valores de frequência muito similares). O segundo passo é iniciado quando o baixo conteúdo de água existente desencadeia o colapso da forma TPm para a forma TPa. Após esta fase, que é dependente da temperatura de armazenamento, o processo de desidratação desenvolve-se continuamente a uma velocidade constante, como indicado pela diminuição de massa nos estudos gravimétricos e pelo aumento das bandas atribuídas à forma TPa.

A formação da forma metastável durante a desidratação da TPh a temperaturas definidas tem sido referida na literatura^{9,23,69}. De acordo com *Phadnis* e col.²³ e *Karjalainen* e col.⁶⁹, esta forma verifica-se apenas se a desidratação for efectuada a temperaturas superiores a 40°C. Contudo, os resultados aqui apresentados indicam claramente que esta espécie pode formar-se em condições de armazenamento que incluem todas as temperaturas aqui discutidas, 35°C, 40°C, 47°C e 60°C. Adicionalmente, verifica-se que mesmo a temperaturas de 22°C, com condições apropriadas para induzir a desidratação, os espectros FT-Raman evidenciam a formação da forma metastável. A conversão da forma TPm para a forma polimórfica TPa (estável a temperaturas ambientes) torna-se mais rápida quanto maior for a temperatura de armazenamento, o que implica que a sua detecção se torne mais ou menos praticável.

O envolvimento desta forma metastável na transição pseudopolimórfica TPh → TPa impede a avaliação dos parâmetros cinéticos do processo de desidratação. Esta constitui provavelmente a razão pela qual alguns resultados cinéticos publicados na literatura (valores de constante de velocidade e escolha do modelo cinético) diferem tanto uns dos outros^{26,27,30}. Contudo, com os resultados obtidos depois do “patamar” (Figura V.15) é possível avaliar os parâmetros cinéticos para o segundo passo. Os modelos cinéticos Avrami-Erofeev e mecanismo de ordem-zero constituem mecanismos adequados para descrever o segundo passo de desidratação, tendo-se obtido valores de R^2 e S_b nos intervalos respectivos de 0.98-0.99 e 0.00030-0.00060.

V.2.6 – Transição hidrato \rightarrow anidro: determinação da humidade relativa crítica

V.2.6.1 – Caféina

A Figura V.16a apresenta os espectros FT-Raman, na região 3075-3155 cm^{-1} , obtidos com amostras de CAh expostas, durante 1 semana, a ambientes com diferentes humidades relativas (%RH) e à temperatura de 22°C. O comportamento observado nesta região espectral verifica-se também nas restantes regiões espectrais consideradas. Adicionalmente, é incluída na Figura V.16 a representação da fracção de desidratação (α_a , %) em função das diferentes humidades relativas (%RH) (Figura V.16b).

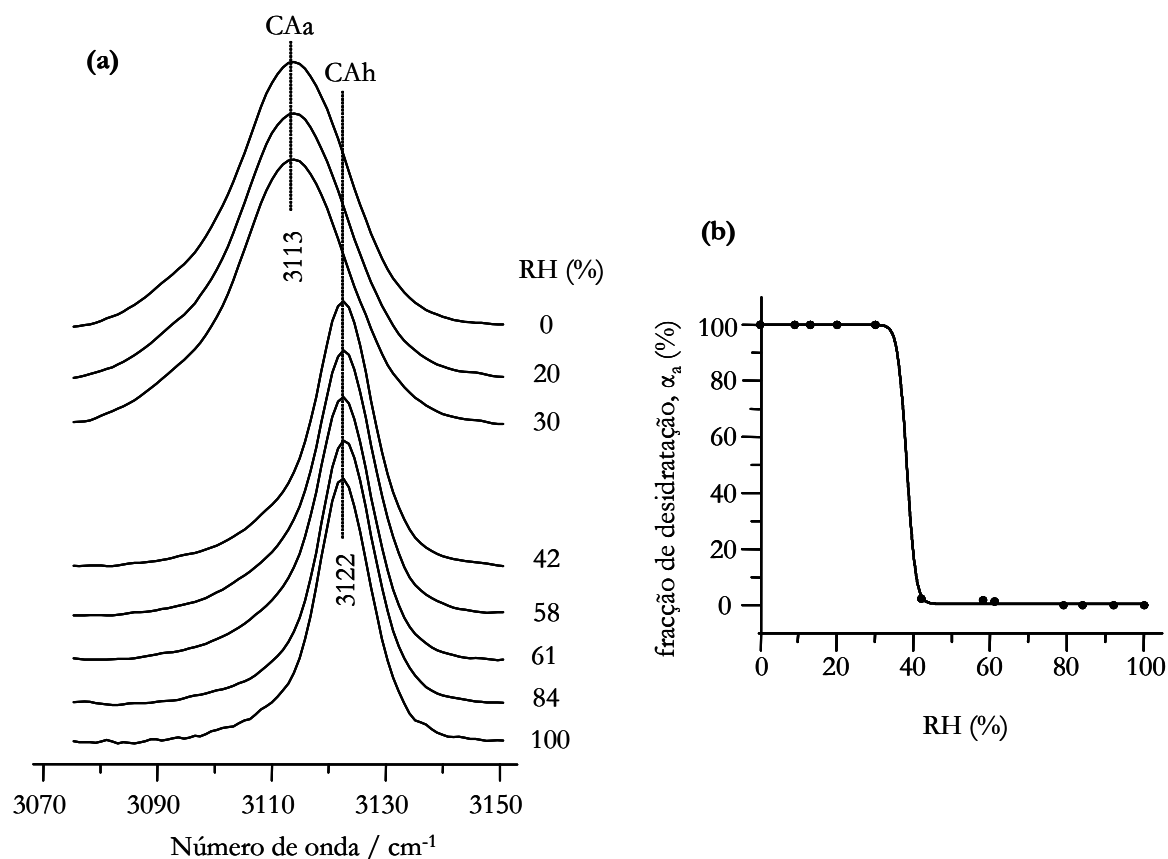


Figura V.16 – (a) Espectros FT-Raman, na região compreendida entre 3075-3155 cm^{-1} , da caféina hidratada (CAh) e (b) representação da fracção de desidratação (α_a , %), ambos (a) e (b) em função de diferentes humidades relativas (%RH) e à temperatura ambiente de 22°C.

Pelos valores obtidos para a fracção de desidratação (α_a), verifica-se que a transição pseudopolimórfica CAh \rightarrow CAa é iniciada aos 61% de RH, embora com um valor extremamente baixo ($\alpha_a = 0.0137$). Entre RH compreendidos no intervalo 61%-42%, a fracção

de desidratação aumenta muito lentamente, verificando-se os valores de 0.0183 para RH=58% e 0.0232 para RH=42%. Para valores de RH=30%, já não se verifica a presença de CAh.

V.2.6.2 – Teofilina

De acordo com a literatura existente, o valor da humidade relativa crítica para a transição TPh \rightarrow TPa ainda não foi estabelecido. Num trabalho publicado por Zhu e col.⁷⁰ foi apresentado um valor de 0.25 para a actividade da água (a_w) crítica para soluções de TP em misturas orgânicas solventes + água. Contudo, estes valores não fornecem informação relativamente ao comportamento de amostras expostas a diferentes condições de RH atmosféricas, dado que no referido trabalho⁷⁰ era estabelecido o contacto directo com o solvente das soluções saturadas. De acordo com os resultados aqui apresentados, a desidratação completa das amostras TPh, após exposição a diferentes humidades relativas durante uma semana e à temperatura de 22°C, é verificada para um RH=20%. Contudo, após exposição a condições de RH=30%, o espectro de Raman da TPh apresenta já algumas evidências da presença de pequenas quantidades de TPa. Neste contexto, o valor de humidade relativa crítica no processo de desidratação da TPh situa-se perto dos 30%, abaixo deste valor.

V.3 – Conclusões

A espectroscopia de Raman provou ser uma técnica apropriada para a quantificação de formas anidras e hidratadas em sistemas moleculares, uma vez que o espectro vibracional é extremamente sensível a alterações pseudopolimórficas, em particular quando envolvem ligações de hidrogénio.

Nos sistemas cafeína (CA) e teofilina (TP), existem várias regiões espectrais que podem ser usadas na quantificação fidedigna de transformações de fase anidro-hidrato.

No caso da CA, as regiões espectrais mais sensíveis a transições pseudopolimórficas são atribuídas a modos vibracionais de elongação dos osciladores $C_{(8)}-H$ (3075-3155 cm^{-1}), $C_{(4)}=C_{(5)}$ (1580-1620 cm^{-1}) e C-C e C-N (1270-1310 cm^{-1}). Estas regiões apresentaram os requisitos necessários para a aplicação da metodologia descrita neste Capítulo e foram utilizadas na monitorização quantitativa das transições $CAa \leftrightarrow CAh$.

No caso da TP, das várias regiões espectrais sensíveis a transições $TPa \leftrightarrow TPh$, apenas três, nomeadamente 3060-3160 cm^{-1} , 900-940 cm^{-1} e 650-685 cm^{-1} , que correspondem respectivamente aos modos vibracionais de elongação do oscilador $C_{(8)}-H$ e de deformação no

plano dos anéis imidazole ($\alpha_{\text{imidazole}}$) e pirimidina ($\alpha_{\text{pirimidina}}$), apresentam os requisitos necessários para aplicar a metodologia descrita.

A hidratação da CAa ocorre através de um processo de um só passo - nucleação aleatória, descrito pela equação de Avrami-Erofeev de expoente $\frac{1}{2}$, com uma constante de velocidade de 0.00114 min^{-1} , a que correspondem tempos de meia-hidratação e hidratação completa de aproximadamente 742 minutos (≈ 12 horas) e 2993 minutos (≈ 50 horas). Relativamente ao valor de humidade relativa crítica correspondente à transição CAa \rightarrow CAh, verificou-se que este sistema apresenta uma baixa higroscopicidade ao longo de um amplo intervalo de valores de %RH (0-79%). A presença da forma CAh verifica-se apenas para valores superiores a 81%, enquanto que a valores de RH=92% já não se verifica a presença da CAa.

No caso da transição CAh \rightarrow CAa provocada por diferentes temperaturas, verificou-se que a desidratação da CAh a 35°C é um processo que envolve dois passos. O primeiro passo é descrito por um mecanismo de ordem-zero (M13), com uma constante de velocidade de 0.0069 min^{-1} , enquanto que o segundo passo é descrito por um mecanismo de nucleação aleatória Mampel (M8) com uma constante de velocidade de 0.00050 min^{-1} . Relativamente ao valor de humidade relativa crítica correspondente ao processo de desidratação da CAh, verificou-se que a transição CAh \rightarrow CAa ocorre no intervalo de valores de 42-30 % de humidade relativa, não se verificando a presença de CAh a valores de RH=30%.

No sistema TP, verificou-se que a descrição mais correcta para a hidratação da TPa é estabelecida de acordo com um mecanismo um só passo – nucleação aleatória, descrito pela equação de Avrami-Erofeev de expoente $\frac{1}{2}$, com uma constante de velocidade de 0.003 min^{-1} , que corresponde a um tempo de meia-hidratação de aproximadamente 5 horas. Relativamente ao valor de humidade relativa crítica correspondente à transição TPa \rightarrow TPh, alterações espectrais evidenciaram a presença da forma TPh apenas para valores de RH superiores a 79%, enquanto que a valores de RH=86% já não se verifica a presença da forma TPa.

No caso da transição TPh \rightarrow TPa provocada por diferentes temperaturas, verificou-se que esta ocorre através de um mecanismo de dois passos, envolvendo uma forma metastável. Relativamente ao valor de humidade relativa crítica correspondente ao processo de desidratação da TPh, verificou-se que este valor se situa perto, mas abaixo, dos 30% de humidade relativa (RH).

V.4 – Bibliografia

1. Amado AM, Nolasco MM, Ribeiro-Claro PJA 2007. Probing pseudopolymorphic transitions in pharmaceutical solids using Raman spectroscopy: hydration and dehydration of theophylline. *J Pharm Sci* 96:1366-1379.
2. Bauer J, Spanton S, Henry R, Quick J, Dziki W, Porter W, Morris J 2001. Ritonavir: an extraordinary example of conformational polymorphism. *Pharm Res* 18:859-866.
3. Chemburker SR, Bauer J, Deming K, Spiwek H, Patel K, Morris J, Henry R, Spanton S, Dziki W, Porter W, Quick J, Bauer P, Donaubaue J, Narayanan BA, Soldani M, Riley D, McFarland K 2000. Dealing with the impact of ritonavir polymorphs on the late stage of bulk drug process development. *Org Proc Res & Dev* 4:413-417.
4. Nogrady T, Weaver DF 2005. Basic principles of drug design I – Drug molecules: structure and properties in medicinal chemistry: a molecular and biochemical approach. Nogrady Th Ed, Oxford University Press New York, p 31-32
5. Stahl HP 1980. The problem of drug interactions with excipients. In towards better safety of drugs and pharmaceutical products. Braimer D D Eds, Elsevier/North-Holland New York, p 265-280
6. Khankari RK, Grant DJW 1995. Pharmaceutical hydrates. *Thermochim Acta* 248:61-79.
7. Hu T-C, Wang S-L, Chen T-F, Lin S-Y 2002. Hydration-induced proton transfer in the solid state of Norfloxacin. *J Pharm Sci* 91:1351-1357.
8. Jørgensen A, Rantanen J, Karjalainen M, Khriachtchev L, Räsänen E, Yliruusi J 2002. Hydrate formation during wet granulation studied by spectroscopic methods and multivariate analysis. *Pharm Res* 19:1285-1291.
9. Airaksinen S, Karjalainen M, Räsänen E, Rantanen J, Yliruusi J 2004. Comparison of the effects of two drying methods on polymorphism of theophylline. *Int J Pharm* 276:129-141.
10. Adeyeye CM, Rowley J, Madu D, Javadi M, Sabnis SS 1995. Evaluation of crystallinity and drug release stability of directly compressed theophylline hydrophilic matrix tablets stored under varied moisture conditions. *Int J Pharm* 116:65-75.
11. Phadnis NV, Suryanarayanan R 1997. Polymorphism in anhydrous theophylline - implications on the dissolution rate of theophylline tablets. *J Pharm Sci* 86:1256-1263.
12. Suihko E, Lehto VP, Ketolainen J, Laine E, Paronen P 2001. Dynamic solid-state and tableting properties of four theophylline forms. *Int J Pharm* 217:225-236.
13. Epple M, Cammenga HK, Sarge SM, Diedrich R, Balek V 1995. The phase transformation of caffeine: investigation by dynamic X-ray diffraction and emanation thermal analysis. *Thermochim Acta* 250:29-39.
14. Bossu FP, Margerum DW 1976. The effect of crystal packing and defects on desolvation of hydrate crystals of caffeine and L-(-)-1,4-cyclohexadiene-l-alanine. *J Am Chem Soc* 98 4004-4005.
15. Ahlqvist MUA, Taylor LS 2002. Water dynamics in channel hydrates investigated using H/D exchange. *Int J Pharm* 241:253-261.
16. Pirttimäki J, Laine E 1994. The transformation of anhydrate and hydrate forms of caffeine at 100% RH and 0% RH. *Eur J Pharm Sci* 1:203-208.
17. Derollez P, Correia NT, Danède F, Capet F, Affouard F, Lefebvre J, Descamps M 2005. Ab initio structure determination of the high-temperature phase of anhydrous caffeine by X-ray powder diffraction. *Acta Cryst B* 61:329-334.
18. Griesser UJ, Burger A 1995. The effect of water vapor pressure on desolvation kinetics of caffeine 4/5-hydrate. *Int J Pharm* 120:83-93.

19. de Matas M, Edwards HGM, Lawson EE, Shields L, York P 1998. FT-Raman spectroscopic investigation of a pseudopolymorphic transition in caffeine hydrate. *J Mol Struct* 440:97-104.
20. Edwards HGM, Lawson E, de Matas M, Shields L, York P 1997. Metamorphosis of caffeine hydrate and anhydrous caffeine. *J Chem Soc Perkin Trans 2*:1985-1990.
21. Debnath S, Suryanarayanan R 2004. Influence of processing-induced phase transformations on the dissolution of theophylline tablets. *AAPS PharmSciTech* 5 Article 8
22. Negro S, Herrero-Vanrell R, Barcia E, Villegas S 2001. Comparative study of the dissolution profiles of a commercial theophylline product after storage. *Arch Pharm Res* 24:568-571.
23. Phadnis NV, Suryanarayanan R 1997. Polymorphism in anhydrous theophylline - implications on the dissolution rate of theophylline tablets. *J Pharm Sci* 86:1256-1263.
24. Jørgensen A, Rantanen J, Karjalainen M, Khriachtchev L, Räsänen E, Yliruusi J 2002. Hydrate formation during wet granulation studied by spectroscopic methods and multivariate analysis. *Pharm Res* 19:1285-1291.
25. Suihko E, Lehto V-P, Ketolainen J, Laine E, Paronen P 2001. Dynamic solid-state and tableting properties of four theophylline forms. *Int J Pharm* 217:225-236.
26. Otsuka M, Kaneniwa N, Kawakami K, Umezawa O 1990. Effect of surface characteristics of theophylline anhydrate powder on hygroscopic stability. *J Pharm Pharmacol* 42:606-610.
27. Lehto V-P, Laine E 2000. Simultaneous determination of heat and the quantity of vapor sorption using a novel microcalorimetric method. *Pharm Res* 17:701-706.
28. Räsänen E, Rantanen J, Jørgensen A, Karjalainen M, Paakkari T, Yliruusi J 2001. Novel identification of pseudopolymorphic changes of theophylline during wet granulation using near infrared spectroscopy. *J Pharm Sci* 90:389-396.
29. Ticehurst MD, Storey RA, Watt C 2002. Application of slurry bridging experiments at controlled water activities to predict the solid-state conversion between anhydrous and hydrated forms using theophylline as a model drug. *Int J Pharm* 247:1-10.
30. Vora KL, Buckton G, Clapham D 2004. The use of dynamic vapour sorption and near infra-red spectroscopy (DVS-NIR) to study the crystal transitions of theophylline and the report of a new solid-state transition. *Eur J Pharm Sci* 22:97-105.
31. Wikström H, Marsac PJ, Taylor LS 2005. In-line monitoring of hydrate formation during wet granulation using Raman spectroscopy. *J Pharm Sci* 94:209-219.
32. Agbada CO, York P 1994. Dehydration of theophylline monohydrate powder - effects of particle-size and sample weight. *Int J Pharm* 106:33-40.
33. Duddu SP, Das NG, Kelly TP, Sokoloski TD 1995. Microcalorimetric investigation of phase transitions: I. Is water desorption from theophylline • HOH a single-step process? *Int J Pharm* 114:247-256.
34. Shefter E, Fung HL, Mok O 1973. Dehydration of crystalline theophylline monohydrate and ampicillin trihydrate. *J Pharm Sci* 62:791-794.
35. Suihko E, Ketolainen J, Poso A, Ahlgren M, Gynther J, Paronen P 1997. Dehydration of theophylline monohydrate - a two step process. *Int J Pharm* 158:47-55.
36. Ledwidge MT, Corrigan OI 1997. Effects of environmental factors on the dehydration of diclofenac HEP dihydrate and theophylline monohydrate. *Int J Pharm* 147:41-49.
37. Ono M, Tozuka Y, Oguchi T, Yamamoto K 2001. Effects of dehydration temperatures on moisture absorption and dissolution behaviour of theophylline. *Chem Pharm Bull* 49:1526-1530.

38. Otsuka M, Kaneniwa N, Kawakami K, Umezawa O 1991. Effects of tableting pressure on hydration kinetics of theophylline anhydrate tablets. *J Pharm Pharmacol* 43:226-231.
39. Otsuka M, Kaneniwa N, Otsuka K, Kawakami K, Umezawa O, Matsuda Y 1992. Effect of geometrical factors on hydration kinetics of theophylline anhydrate tablets. *J Pharm Sci* 81:1189-1193.
40. Ando H, Ishii M, Kayano M, Ozawa H 1992. Effect of moisture on crystallization of theophylline in tablets. *Drug Dev & Ind Pharm* 18:453-467.
41. Salameh AK, Taylor LS 2006. Physical stability of crystal hydrates and their anhydrides in the presence of excipients. *J Pharm Sci* 95:446-461.
42. Wu C, McGinity JW 2000. Influence of relative humidity on the mechanical and drug release properties of theophylline pellets coated with an acrylic polymer containing methylparaben as a non-traditional plasticizer. *Eur J Pharm Biopharm* 50:277-284.
43. Airaksinen S, Luukkonen P, Jørgensen A, Karjalainen M, Rantanen J, Yliruusi J 2003. Effects of excipients on hydrate formation in wet masses containing theophylline. *J Pharm Sci* 92:516-528.
44. Jørgensen AC, Airaksinen S, Karjalainen M, Luukkonen P, Rantanen J, Yliruusi J 2004. Role of excipients in hydrate formation kinetics of theophylline in wet masses studied by near-infrared spectroscopy. *Eur J Pharm Biopharm* 23:99-104.
45. Vendruscolo CW, Andreazza IF, Ganter JLMS, Ferrero C, Bresolin TMB 2005. Xanthan and galactomannan (from *M. scabrella*) matrix tablets for oral controlled delivery of theophylline. *Int J Pharm* 296:1-11.
46. Fini G 2004. Applications of Raman spectroscopy to pharmacy. *J Raman Spectrosc* 35:335-337.
47. Szelagiewicz M, Marcolli C, Cianferani S, Hard AP, Vit A, Burkhard A, von Raumer M, Hofmeier UC, Zilian A, Francotte E, Schenker R 1999. *In situ* characterization of polymorphic forms. The potential of Raman techniques. *J Therm Analys and Calorim* 57:23-43.
48. Brittain HG 1997. Spectral methods for the characterization of polymorphs and solvates. *J Pharm Sci* 86:405-412.
49. Bugay DE 2001. Characterization of the solid-state: spectroscopic techniques. *Adv Drug Del Rev* 48:43-65.
50. O'Brien LE, Timmins P, Williams AC, York P 2004. Use of in situ FT-Raman spectroscopy to study the kinetics of the transformation of carbamazepine polymorphs. *J Pharm Biomed Anal* 36:335-340.
51. Pratiwi D, Fawcett JP, Gordon KC, Rades T 2002. Quantitative analysis of polymorphic mixtures of ranitidine hydrochloride by Raman spectroscopy and principal components analysis. *Eur J Pharm Biopharm* 54:337-341.
52. Gamberini MC, Baraldi C, Tinti A, Rustichelli C, Ferioli V, Gamberini G 2006. Solid state characterization of chloramphenicol palmitate. Raman spectroscopy applied to pharmaceutical polymorphs. *J Mol Struct* 785:216-224.
53. Starbuck C, Spartalis A, Wai L, Wang J, Fernandez P, Lindemann CM, Zhou GX, Ge Z 2002. Process optimization of a complex pharmaceutical polymorphic system via in situ Raman spectroscopy. *Crystal Growth & Design* 2:515-522.
54. Hausman DS, Cambron RT, Sakr A 2005. Application of on-line Raman spectroscopy for characterizing relationships between drug hydration state and tablet physical stability. *Int J Pharm* 299:19-33.

55. S. Cinta Pinzaru IP, N. Leopold and W. Kiefer 2004. Identification and characterization of pharmaceuticals using Raman and surface-enhanced Raman scattering. *J Raman Spectrosc* 35:338-346.
56. Amado AM, Flor F, Félix V, Gil AM, Ribeiro-Claro PJA 2002. Structural studies of solid carbohydrates: the effect of relative humidity on the structure of glucose. Proceedings of the II Iberian Carbohydrate Meeting (II-IBER-CARB) Ronda Málaga Spain, p171.
57. Ahlqvist MUA, Taylor LS 2002. Water diffusion in hydrated crystalline and amorphous sugars monitored using H/D exchange. *J Pharm Sci* 91:690-698.
58. Amado AM, Ribeiro-Claro PJA 1997. H/D and D/H exchange rates in α -cyclodextrin and α -cyclodextrin inclusion compounds. Raman spectroscopy study. *J Chem Soc Faraday Trans* 93:2387-2390.
59. Steiner T, Moreira da Silva AM, Teixeira-Dias JJC, Müller J, Saenger W 1995. Rapid water diffusion in a cage-type crystal lattice: β -cyclodextrin dodecahydrate. *Angew Chem Int Ed Engl* 34:1452-1453.
60. Moreira da Silva AM, Steiner T, Saenger W, Empis J, Teixeira-Dias JJC 1996. Dynamics of hydration and dehydration processes of β -cyclodextrin monitored in real time by Raman spectroscopy. *Chem Commun* 1871-1872.
61. Moreira da Silva AM, Steiner T, Saenger W, Empis J, Teixeira-Dias JJC 1997. Dynamics of H/D and D/H exchanges in β -cyclodextrin dodecahydrate observed in real time: effects from zero-point vibrational energy. *Chem Commun* 465-466.
62. Moreira da Silva AM, Empis JMA, Teixeira-Dias JJC 2002. Inclusion of carvone enantiomers in cyclomaltoheptaose (β -cyclodextrin): thermal behaviour and H-D and D-H exchange. *Carbohydrate Res* 337:2501-2504.
63. Taylor LS, Langkilde FW 2000. Evaluation of solid-state forms present in tablets by Raman spectroscopy. *J Pharm Sci* 89:1342-1353.
64. Pemberton RS, Shurvell HF 1995. Raman spectroscopic study of complex formation between p-cresol and propionitrile. *J Raman Spectrosc* 26:373-380.
65. Girling RB, Shurvell HFA 1998. Raman spectroscopic study of complex formation between o-cresol and propionitrile. *Vib Spectrosc* 18:77-82.
66. Brown ME, Galwey AK 1979. The distinguishability of selected kinetic models for isothermal solid-state reactions. *Thermochim Acta* 29:129-146.
67. Vyazovkin S 1997. Evaluation of activation energy of thermally stimulated solid-state reactions under arbitrary variation of temperature. *J Comp Chem* 18:393-402.
68. Ortega A 2002. The kinetics of solid-state reactions toward consensus, Part 3. Searching for consistent kinetic results: SCTA vs conventional thermal analysis. *Int J Chem Kinet* 34:223-236.
69. Karjalainen M, Airaksinen S, Rantanen J, Aaltonen J, Yliruusi J 2005. Characterization of polymorphic solid-state changes using variable temperature X-ray powder diffraction. *J Pharm Biomed Anal* 39:27-32.
70. Zhu H, Yuen C, Grant DJW 1996. Influence of water activity in organic solvent + water mixtures on the nature of the crystallizing drug phase. 1. Theophylline. *Int J Pharm* 135:151-160.
71. Nolasco MM, Amado AM, Ribeiro-Claro PJA 2006. Computationally-assisted approach to the vibrational spectra of molecular crystals: study of hydrogen-bonding and pseudo-polymorphism in theophylline, theobromine and caffeine. *ChemPhysChem* 7:2150-2161.



Capítulo VI

Compostos de inclusão em ciclodextrinas

*“Aqueles que não gostam de pensar
pelo menos deveriam reajustar
de tempos em tempos os seus preconceitos”*

L.Burbank



ÍNDICE

Capítulo VI

<i>Compostos de inclusão em ciclodextrinas</i>	181
RESUMO	183
VI.1 – Considerações gerais	184
VI.2 – Compostos de inclusão do ácido trans-cinâmico e seus derivados fenólicos	186
VI.2.1 – Introdução	186
VI.2.2 – Resultados e discussão	188
VI.2.2.1 – Análise conformacional dos hóspedes	188
VI.2.2.2 – Investigação da formação de compostos de inclusão	191
VI.2.3 – Conclusões	202
VI.3 – Compostos de inclusão do bisciclopentadienildicloreto de nióbio	203
VI.3.1 – Introdução	203
VI.3.2 – Discussão dos resultados obtidos por espectroscopia vibracional e cálculos <i>ab initio</i>	204
VI.3.3 – Conclusões	209
VI.4 – Bibliografia	210

RESUMO

Neste Capítulo é realçada a utilização combinada da espectroscopia vibracional e dos cálculos *ab initio* como uma metodologia extremamente útil no estudo dos compostos de inclusão.

Os compostos de inclusão do ácido trans-cinâmico e seus derivados fenólicos em ciclodextrinas naturais α -, β - e γ -CD foram preparados, no estado sólido, e estudados por espectroscopia de Raman e por análise termogravimétrica. As estequiometrias de inclusão foram calculadas quantitativamente por análise termogravimétrica. A selectividade apresentada pelas ciclodextrinas por um determinado conformero das moléculas hóspedes, revelada por alterações espectrais, foi justificada por cálculos *ab initio*. A existência de ligações de hidrogénio entre o grupo carbonilo e os grupos hidroxilo de moléculas de água estruturais foi evidenciada por alterações espectrais no modo de elongação do grupo carbonilo.

Adicionalmente, é apresentado e discutido o estudo teórico e experimental, por espectroscopia de absorção no Infravermelho e de difusão de Raman, da inclusão do bisciclopentadienildicloreto de nióbio (Cp_2NbCl_2) na ciclodextrina natural β -CD e na permetilada β -CD (TRIMEB). No composto β -CD $\cdot\text{Cp}_2\text{NbCl}_2$, a estrutura mais estável envolve a inclusão superficial de ambos os ciclopentadienilos. No caso do composto TRIMEB-CD $\cdot\text{Cp}_2\text{NbCl}_2$, a inclusão é estabelecida pela inserção de apenas um dos ciclopentadienilos no interior da cavidade da TRIMEB, situação que é apoiada pelo modelo estrutural obtido por difracção de raios-X.

Este Capítulo encontra-se dividido em três partes principais. Na primeira parte, são estabelecidas algumas considerações gerais sobre compostos de inclusão em ciclodextrinas, complementando assim a informação já descrita na Secção I.1.4 do Capítulo I. Na segunda parte do Capítulo são descritos os resultados da inclusão de hóspedes orgânicos em ciclodextrinas, particularmente ácido trans-cinâmico e seus derivados fenólicos em α -, β - e γ -CD. Finalmente são descritos os resultados da inclusão do organometálico bisciclopentadienildicloreto de nióbio (Cp_2NbCl_2) em β -CD e numa β -CD modificada (TRIMEB).

VI.1 – Considerações gerais

As ciclodextrinas α -, β - e γ -CD, denominadas naturais por se formarem na natureza pela acção de microrganismos específicos, têm sido estudadas intensivamente como hóspedes moleculares para uma grande variedade de moléculas^{1,2}. Na sua maioria, os hóspedes incluídos nas ciclodextrinas são compostos orgânicos³⁻¹³, verificando-se também a existência de outros compostos, como por exemplo compostos organometálicos^{1,14-37}, como hóspedes apropriados para a inclusão.

Apesar da sua elevada aplicabilidade, as ciclodextrinas naturais são moléculas que apresentam rigidez molecular condicionada pela forma, tamanho e disponibilidade dos grupos funcionais³⁸. De forma a modelar estas propriedades, recorre-se usualmente à utilização de ciclodextrinas modificadas, preparadas a partir das ciclodextrinas naturais, e que incluem as ciclodextrinas substituídas quimicamente e as ciclodextrinas ramificadas³⁸.

As ciclodextrinas naturais podem ser modificadas quimicamente pela substituição dos grupos hidroxilos por outro grupo funcional, por exemplo, ésteres, éteres, aminas ou outros^{38,39}. A substituição dos grupos hidroxilos das ciclodextrinas naturais por éteres é uma das mais importantes, verificando-se, por exemplo, a substituição, parcial ou total, dos grupos hidroxilo por grupos metoxilo. As ciclodextrinas completamente substituídas são a hexaquis-2,3,6-tri-O-metil-ciclodextrina- α,β,γ , designadas respectivamente por TRIMEA, TRIMEB e TRIMEG.

A ciclodextrina TRIMEB é conhecida pela sua cavidade não-polar e pela sua capacidade para aprisionar moléculas orgânicas tanto em solução³ como no estado cristalino⁴⁰⁻⁴². Adicionalmente, também se verifica a inclusão de organometálicos nesta ciclodextrina^{22,23}. A

TRIMEB é também amplamente utilizada em sistemas de libertação de fármacos uma vez que possibilita uma elevada protecção do hóspede em relação à sua hidrólise⁴³.

A capacidade de formar compostos de inclusão aliada à sua baixa toxicidade⁴⁴, permite às ciclodextrinas um número considerável de aplicações⁴⁵. Estas estendem-se desde uma vasta gama de produtos industriais contendo ciclodextrinas, tais como produtos farmacêuticos^{2,4,43,46-50}, alimentares^{48,51-53}, têxteis, perfumes e cosméticos^{48,54-56} até processos analíticos^{48,57-60} e biotecnológicos^{48,51,57,61} que envolvem a utilização destes compostos.

Um conjunto notável de diferentes técnicas experimentais, que incluem diversos métodos de difracção, métodos espectroscópicos e termoanalíticos podem ser utilizados para avaliar a formação de compostos de inclusão no estado sólido⁶², bem como analisar a estrutura molecular e possíveis interacções estabelecidas entre hóspede-hospedeiro.

A espectroscopia de Raman, como referido anteriormente na Secção II.3.4 do Capítulo II, tem-se revelado uma ferramenta extremamente útil na investigação de compostos de inclusão, sendo extensivamente utilizada na caracterização de compostos de inclusão amorfos.

Das várias técnicas termoanalíticas existentes, a análise termogravimétrica (TGA) é uma das mais utilizadas. De facto, esta técnica permite não só demonstrar a formação de compostos de inclusão, como determinar a estequiometria hóspede:hospedeiro⁶²⁻⁶⁸.

Complementarmente à utilização de métodos experimentais, pode-se recorrer à utilização dos cálculos computacionais para consolidar as observações experimentais. Como já referido anteriormente na Secção II.4 do Capítulo II, os cálculos computacionais do tipo *ab initio* podem ser utilizados na modelação molecular de compostos de inclusão em ciclodextrinas, possibilitando-se assim a determinação quer do perfil energético quer dos modos preferenciais de inclusão, bem como das possíveis interacções hóspede-hospedeiro.

VI.2 – Compostos de inclusão do ácido trans-cinâmico e seus derivados fenólicos

VI.2.1 – Introdução

A possibilidade de se formarem compostos de inclusão em ciclodextrinas depende, em grande parte, das propriedades do hóspede a ser incluído, nomeadamente a geometria e a polaridade, e da adaptação da molécula hóspede às condições da cavidade da ciclodextrina.

Os hóspedes com um anel aromático, ao possuírem hidrofobicidade e dimensões adequadas para a cavidade das CDs, constituem moléculas apropriadas para a inclusão⁶⁹. Vários exemplos de compostos de inclusão de hóspedes contendo um anel aromático e substituintes pouco volumosos podem ser encontrados em literatura relativamente recente^{5,8,68,70-73}. A presença de um substituinte hidroxilo na molécula hóspede, devido ao seu elevado carácter hidrofílico, é geralmente considerada como um impedimento para a formação do composto de inclusão⁶⁹. No entanto, dado que existem exemplos na literatura nos quais se verificou a inclusão em profundidade de um grupo hidroxilo aromático no interior da cavidade hidrofóbica da ciclodextrina, estabelecendo-se inclusivamente ligações de hidrogénio entre o grupo hidroxilo do hóspede e um dos grupos hidroxilo do hospedeiro^{74,75}, a presença deste grupo não deve ser generalizada como desfavorável ao processo de inclusão.

O ácido trans-cinâmico (t-CIA) e os seus derivados fenólicos (Figura VI.1), ácido 3-hidroxi-trans-cinâmico (t-3OHCIA), ácido 4-hidroxi-trans-cinâmico (t-4OHCIA) e ácido 3,4-dihidroxi-trans-cinâmico (t-3,4OHCIA) constituem moléculas hóspedes interessantes por várias razões, nomeadamente: possuem um anel aromático, o que favorece a interacção com a cavidade da ciclodextrina; permitem explorar a influência dos grupos hidroxilo no processo de inclusão e, pelo facto de apresentarem um grupo carbonilo, permitem a investigação de ligações de hidrogénio do tipo $C-H \cdots O$.

Adicionalmente, estas moléculas apresentam diferentes confórmeros e que podem ser seleccionados diferentemente consoante as diferentes ciclodextrinas, isto é, durante a inclusão pode observar-se uma selectividade por parte das ciclodextrinas por um determinado confórmero do hóspede. Os hóspedes escolhidos neste estudo, cuja base estrutural é o ácido cinâmico, são incluídos no domínio dos derivados do ácido fenólico, compostos de elevado interesse medicinal para os quais são conhecidas propriedades anti-inflamatórias^{76,77}, anti-oxidantes⁷⁸⁻⁸¹ e anti-tumorais⁸²⁻⁸⁸.

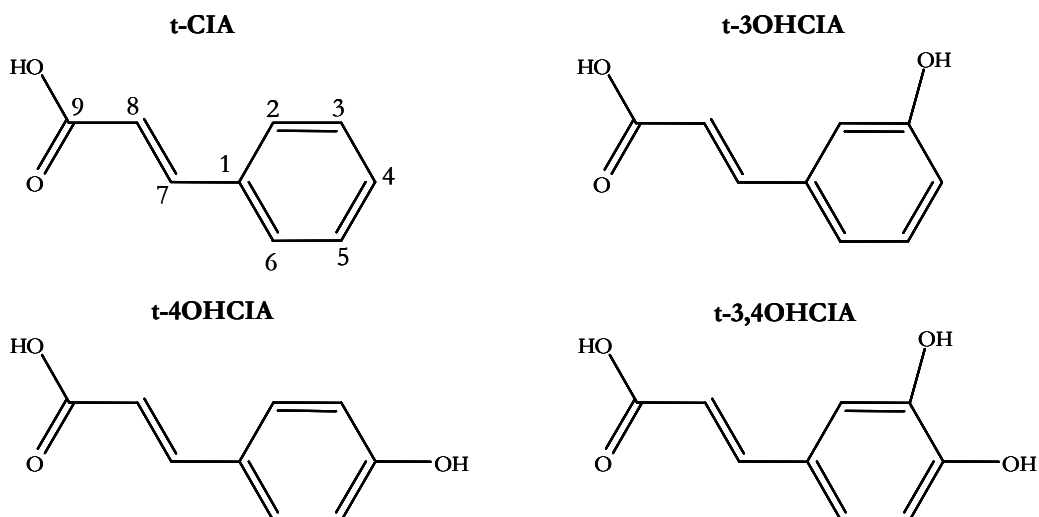


Figura VI.1 – Numeração dos átomos e representação esquemática do ácido trans-cinâmico (t-CIA) e seus derivados fenólicos, ácido 3-hidroxi-trans-cinâmico (t-3OHCIA), ácido 4-hidroxi-trans-cinâmico (t-4OHCIA) e ácido 3,4-dihidroxi-trans-cinâmico (t-3,4OHCIA).

A espectroscopia de Raman tem sido utilizada em vários estudos para avaliar os efeitos do processo de inclusão nas moléculas hóspedes, em particular a selectividade conformacional^{71-73,89,90}.

Os compostos de inclusão em estudo apresentam, por espectroscopia de Raman, modos vibracionais dos hóspedes em zonas espectrais sem interferências de bandas de ciclodextrinas e que podem ser utilizados como sondas vibracionais para investigar a formação dos compostos de inclusão. Esta situação não é verificada nos espectros FT-IR dos compostos de inclusão, dado que a maioria das bandas dos hóspedes são muito fracas e sobrepostas pelas bandas das CDs (inclusivamente o modo de elongação do carbonilo é fortemente dissimulado pela presença de modos de deformação O-H-O de moléculas de água estruturais).

Neste estudo pretende-se investigar a formação de compostos de inclusão do ácido trans-cinâmico e seus derivados fenólicos em α -, β - e γ -CD em termos de interações intermoleculares hóspede-hospedeiro, selectividade conformacional, possíveis orientações do hóspede no interior das ciclodextrinas e estequiometria de inclusão. Para atingir os objectivos propostos, utilizaram-se as técnicas experimentais de espectroscopia de Raman e análise termogravimétrica. Complementarmente, foi estabelecida, por cálculos computacionais do tipo *ab initio*, a análise conformacional dos hóspedes.

VI.2.2 – Resultados e discussão

VI.2.2.1 – Análise conformacional dos hóspedes

Os compostos com anéis aromáticos substituídos, como é o caso dos hóspedes em estudo, podem apresentar isomerismo geométrico. No presente estudo foram utilizados os hóspedes CIA, 3OHCIA, 4OHCIA e 3,4OHCIA com isomerismo trans (Figura VI.1).

Para se proceder à análise conformacional do t-CIA, t-3OHCIA e t-4OHCIA (em relação ao t-3,4OHCIA, esta já se encontra estabelecida na literatura⁹¹), foram realizados cálculos *ab initio* para diferentes conformémeros (na situação de molécula isolada), para determinar as conformações de energia mínima e respectivas frequências vibracionais (ver detalhes na Secção VIII.2 do Capítulo VIII).

Na Figura VI.2 estão representadas as geometrias optimizadas para os vários conformémeros do t-CIA.

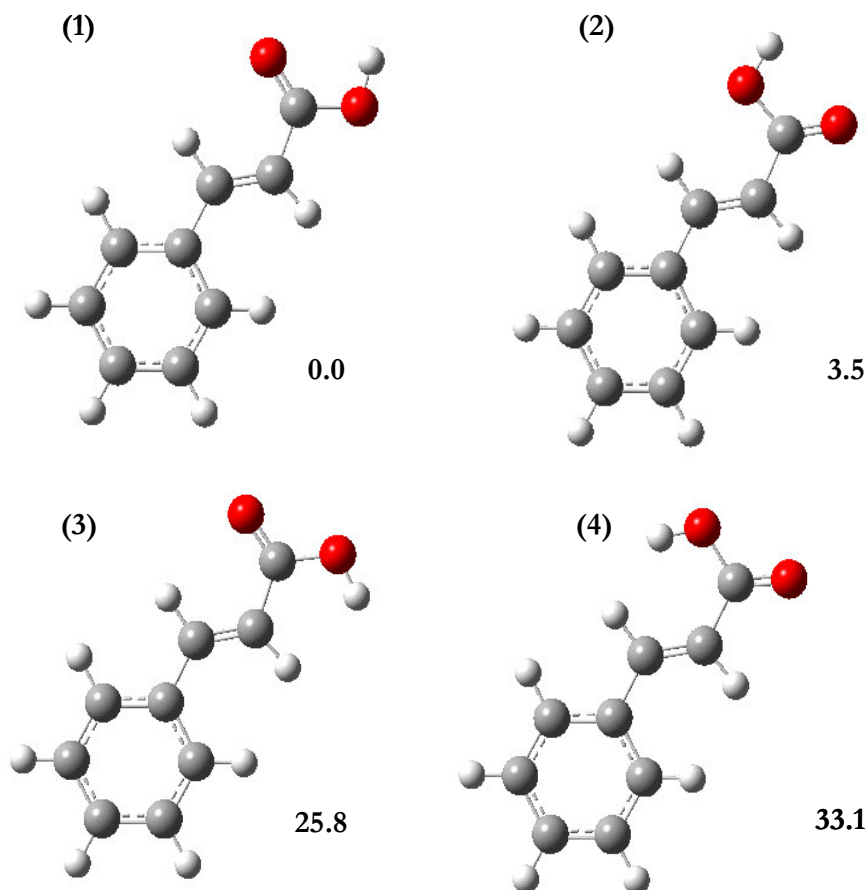


Figura VI.2 – Geometrias optimizadas ao nível B3LYP/6-31G* para os vários conformémeros do ácido trans-cinâmico (t-CIA). Adicionalmente estão indicados os valores de energia relativa, em kJ mol⁻¹, dos vários conformémeros (após contabilização da energia vibracional do ponto zero, ZPVE).

Esta molécula apresenta duas conformações, S-cis (1) e S-trans (2), devido à rotação em torno da ligação $C_{(8)}-C_{(9)}$. Adicionalmente, a orientação do grupo hidroxilo pode também variar (situações 3 e 4 da Figura VI.2). De acordo com os resultados obtidos relativamente à energia relativa dos conformémeros, verificou-se que o mínimo global corresponde ao conformémero (1), conformação S-cis, verificando-se uma diferença energética de apenas 3.5 kJ mol^{-1} em relação ao conformémero (2), conformação S-trans. Nas restantes situações (3) e (4), a proximidade existente entre o hidrogénio do grupo hidroxilo e os hidrogénios do grupo vinílico $H-C_{(7)}=C_{(8)}-H$ é muito repulsiva, verificando-se deste modo valores de energia relativamente elevados (em relação ao mínimo a diferença energética é de 25.8 kJ mol^{-1} na situação (3) e 33.1 kJ mol^{-1} na situação (4)). Deste modo, na análise conformacional das restantes moléculas, a orientação estabelecida para o grupo hidroxilo (pertencente ao grupo carboxílico) é a indicada nas situações (1) e (2) da Figura VI.2.

No caso do t-3OHCIA, devido à presença do substituinte na posição 3 do anel aromático, a molécula pode adoptar várias conformações em resultado de rotações em torno das ligações $C_{(8)}-C_{(9)}$ e $C_{(1)}-C_{(7)}$. Adicionalmente, podem verificar-se duas orientações do grupo hidroxilo substituinte do anel aromático. Na Figura VI.3 encontram-se representadas as estruturas optimizadas para os vários conformémeros do t-3OHCIA.

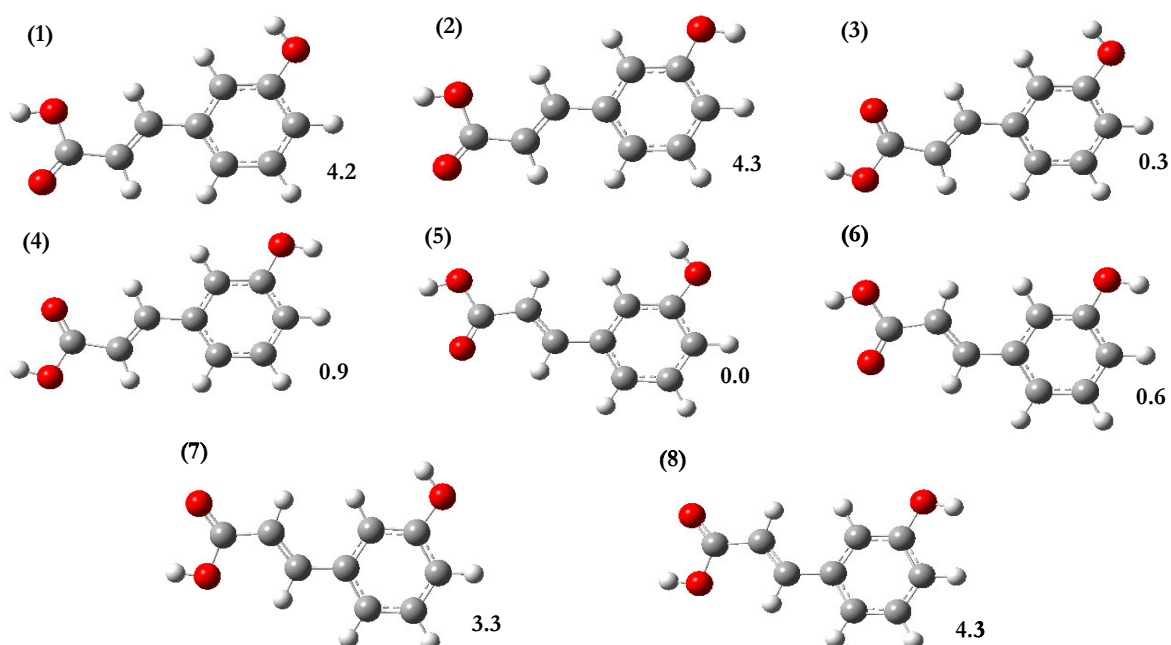


Figura VI.3 – Geometrias optimizadas ao nível B3LYP/6-31G* para os vários conformémeros do ácido 3-hidroxi-trans-cinâmico (t-3OHCIA). Adicionalmente estão indicados os valores de energia relativa, em kJ mol^{-1} , dos vários conformémeros (após contabilização da energia vibracional do ponto zero, ZPVE).

Pela análise dos resultados, verifica-se que o mínimo global corresponde ao conformero (5), conformação S-cis, verificando-se uma diferença energética de apenas 3.3 kJ mol⁻¹ em relação ao conformero (7), conformação S-trans.

Relativamente ao t-4OHCIA, devido ao facto desta molécula apresentar substituição simétrica no anel aromático, não adopta diferentes conformações em resultado da rotação em torno da C₍₁₎-C₍₇₎. Deste modo, apenas a rotação em torno da ligação C₍₈₎-C₍₉₎ e as diferentes orientações do grupo hidroxilo substituinte do anel aromático provocam a existência de diferentes conformações. Na Figura VI.4 encontram-se representadas as estruturas optimizadas para os vários conformeros do t-4OHCIA.

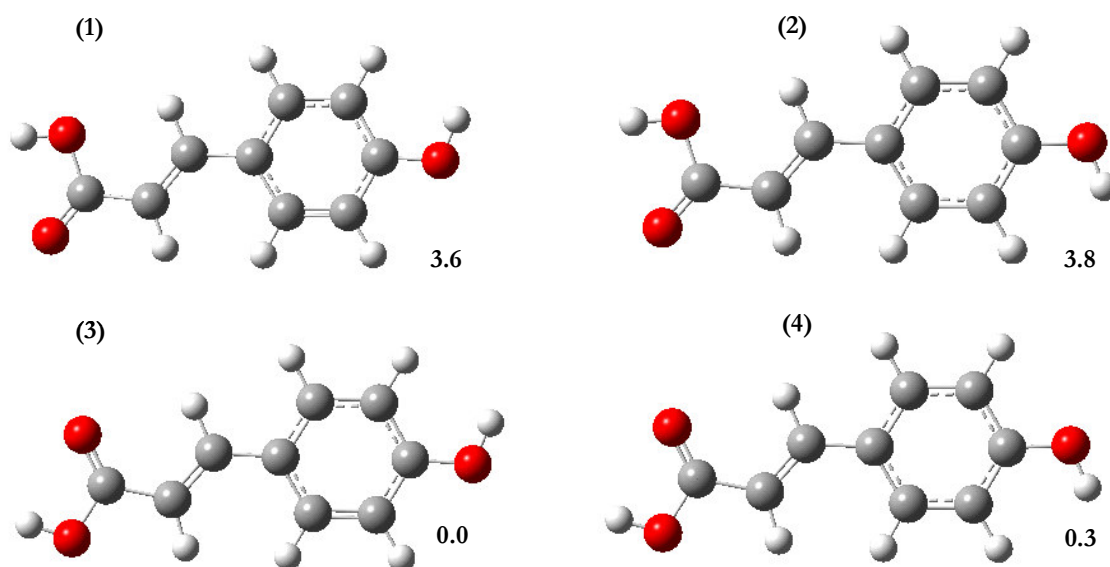


Figura VI.4 – Geometrias optimizadas ao nível B3LYP/6-31G* para os vários conformeros do ácido 4-hidroxi-trans-cinâmico (t-4OHCIA). Adicionalmente estão indicados os valores de energia relativa, em kJ mol⁻¹, dos vários conformeros (após contabilização da energia vibracional do ponto zero, ZPVE).

De acordo com os resultados obtidos relativamente à energia relativa dos conformeros, verificou-se que o mínimo global corresponde ao conformero (3), conformação S-cis, verificando-se uma diferença energética de apenas 3.6 kJ mol⁻¹ em relação ao conformero (1), conformação S-trans.

Os modos vibracionais das moléculas hóspedes são afectados diferentemente consoante a conformação adoptada pela molécula. Assim, a comparação dos espectros simulados teoricamente para os diferentes conformeros das moléculas hóspedes (na situação

de molécula isolada) com os espectros obtidos por espectroscopia de Raman, permite estabelecer o conformero dominante na forma condensada.

VI.2.2.2 – Investigação da formação dos compostos de inclusão

De maneira a confirmar a formação dos compostos de inclusão bem como determinar a estequiometria destes, foram preparadas misturas físicas com diferentes proporções molares de CD/hóspede, nomeadamente 1:1, 1:2 e 2:1 (ver detalhes na Secção VIII.1.5.2 do Capítulo VIII).

Os espectros de Raman dos compostos de inclusão foram comparados com os espectros das misturas físicas, tendo-se confirmado a sua formação. De facto, verificou-se que os espectros das várias misturas físicas se assemelham com o somatório individual dos espectros dos hóspedes e das CDs (na proporção indicada), enquanto que os espectros de Raman dos compostos de inclusão apresentam diferenças significativas em determinadas bandas das moléculas hóspedes.

As moléculas hóspedes apresentam osciladores vibracionais de frequências características (nomeadamente $\nu\text{C-C}_{\text{arom}}$, $\nu\text{C}_{(1)}\text{-C}_{(7)}$, $\nu\text{C}_{(7)}\text{=C}_{(8)}$, $\nu\text{C}_{(9)}\text{=O}$ e $\nu\text{C-H}$) em regiões espectrais isentas de bandas de ciclodextrinas (quando se considera os espectros dos compostos de inclusão) e que podem funcionar como sondas vibracionais na investigação da formação dos compostos de inclusão.

Dado que o modo vibracional $\nu\text{C}_{(1)}\text{-C}_{(7)}$ é um modo bastante sensível à conformação adoptada pela molécula hóspede, este modo será utilizado para estudar equilíbrios conformacionais de moléculas hóspedes perturbadas pela formação dos compostos de inclusão com várias CDs. Adicionalmente, os modos vibracionais $\nu\text{C-C}_{\text{arom}}$, $\nu\text{C}_{(7)}\text{=C}_{(8)}$, $\nu\text{C}_{(9)}\text{=O}$ e $\nu\text{C-H}$ fornecem informação relativa às interações intermoleculares hóspede-hospedeiro bem como as possíveis orientações do hóspede no interior das ciclodextrinas.

Na Figura VI.5a é estabelecida a comparação, na região $1100\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$, entre o espectro de Raman do t-CIA no estado sólido (Figura VI.5a, espectro representado a cor preta) e os espectros obtidos teoricamente para os conformeros (1) e (2) do t-CIA (Figura VI.5a, espectros representados com diferentes cores). Na situação de molécula isolada, verificou-se pelos cálculos *ab initio*, que o conformero S-cis (1) é o mais estável, embora a diferença energética entre este e o conformero S-trans (2) seja relativamente baixa. No entanto, quando se considera o espectro em fase condensada, verifica-se, pela coincidência

com o espectro previsto teoricamente para o conformero S-trans (2), que na fase condensada o conformero (2) é dominante. Esta situação não é, no entanto, surpreendente. Na maioria das estruturas cristalinas estabelecidas para o t-CIA^{92,93} verifica-se a presença de dímeros centrossimétricos estabelecidos por moléculas t-CIA com conformação S-trans.

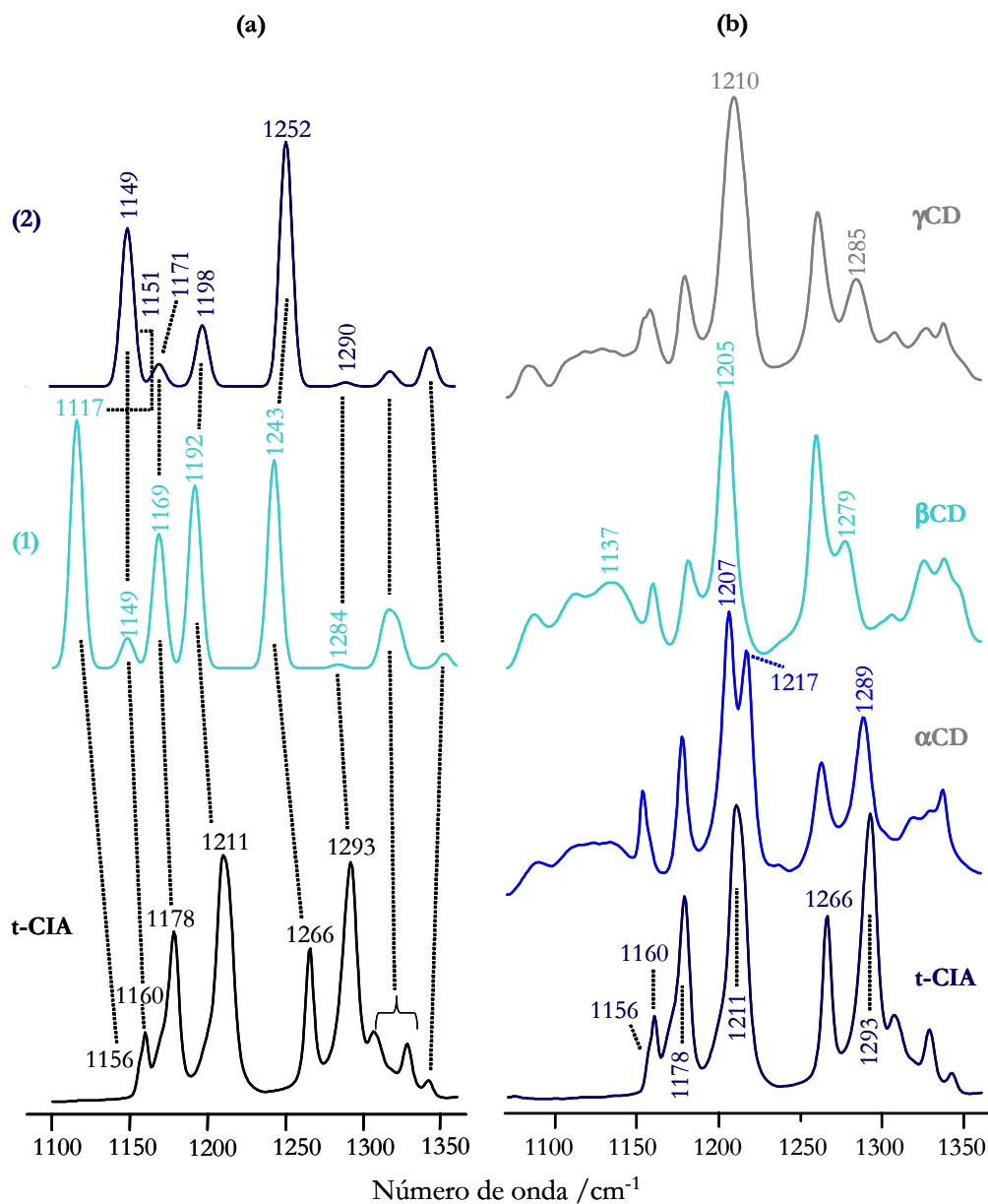


Figura VI.5 – Comparação estabelecida na região 1100-1350 cm⁻¹, entre o espectro de FT-Raman do t-CIA no estado sólido e (a) os espectros previstos teoricamente para os dois conformeros (1) e (2) e (b) os espectros dos compostos de inclusão do t-CIA com a α-, β- e γ-CD.

A banda observada a 1211 cm⁻¹ no espectro de Raman do t-CIA puro no estado sólido é atribuída ao modo $\nu_{C_{(1)}-C_{(7)}}$ (em concordância com a atribuição estabelecida em outros

trabalhos já publicados)⁹⁴ e apresenta diferentes valores dependendo da conformação da molécula, 1192 cm⁻¹ para o conformero S-cis (1) e 1198 cm⁻¹ para o conformero S-trans (2) (Figura VI.5a). Dado que o equilíbrio conformacional pode ser afectado diferentemente pela inclusão em diferentes ciclodextrinas, é esperado que esta banda (nos diferentes compostos de inclusão) reflecta esse comportamento (Figura VI.5b). De facto, verifica-se que na inclusão do t-CIA na α -CD e na γ -CD, não existe uma preferência conformacional por um determinado conformero, havendo assim inclusão dos dois conformeros (1) e (2) em proporções equitativas, que se verifica pelo desdobramento da referida banda a 1207 cm⁻¹ e 1217 cm⁻¹ no composto de inclusão com a α -CD e no alargamento da banda no composto de inclusão com γ -CD.

No caso da inclusão na β -CD, verificou-se que esta apresenta uma selectividade por um determinado conformero da molécula hóspede, neste caso pelo conformero S-cis (1). Apesar de na região compreendida entre 1100-1150 cm⁻¹ ser esperada a ocorrência de bandas atribuídas às ciclodextrinas, a intensificação que se verifica na banda a 1137 cm⁻¹ não é atribuída apenas à presença dessas bandas (inclusivamente o máximo da banda existente atribuída à CD é de 1127 cm⁻¹) mas também à existência de uma banda atribuída ao conformero 1 (esta banda é teoricamente prevista para 1117 cm⁻¹). Adicionalmente, o desvio para menores valores de frequência da banda a 1211 cm⁻¹ para 1205 cm⁻¹ é também um indício da inclusão do conformero S-cis (1). Esta situação é plausível, uma vez que já foi verificada a presença de moléculas com conformação S-cis numa estrutura cristalina do t-CIA⁹⁵. Adicionalmente, verifica-se durante a inclusão o desvio da banda a 1293 cm⁻¹ para menores frequências. Esta banda, pela região em que é observada e pela intensidade média/forte que possui, pode ser atribuída à elongação (O=)C-O⁹⁶, tendo-se verificado esta atribuição em outros trabalhos já publicados⁹⁷.

As moléculas hóspedes em estudo possuem estruturas cristalinas^{92,93,95,98-100} nas quais se verifica a existência de dímeros centrossimétricos estabelecidos por ligações de hidrogénio O-H...O(=C) (Figura VI.6).

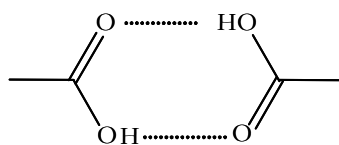


Figura VI.6 – Representação esquemática de dímeros centrossimétricos estabelecidos por ligações O-H...O(=C).

Durante o processo de inclusão verifica-se a quebra dessas ligações entre moléculas adjacentes do hóspede, pelo que as frequências de elongação dos osciladores envolvidos na ligação são alteradas. Nesta situação particular, verifica-se o desvio da banda a 1293 cm^{-1} para menores frequências, nomeadamente desvios de 4, 14 e 8 cm^{-1} quando se considera, respectivamente, a inclusão na α -, β - e γ -CD.

Nos compostos de inclusão das restantes moléculas hóspedes, t-3OHClA, t-4OHClA e t-3,4OHClA, não se verificaram alterações significativas nesta região.

Na Figura VI.7 é estabelecida a comparação, na região dos modos vibracionais $\nu\text{C}_{\text{arom}}$, $\nu\text{C}_{(7)}=\text{C}_{(8)}$ e $\nu\text{C}_{(9)}=\text{O}$ ($1550\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$), entre os espectros de Raman dos hóspedes puros e os espectros dos correspondentes compostos de inclusão.

Relativamente aos espectros de Raman dos hóspedes puros t-ClA (a), t-3OHClA (b), t-4OHClA (c) e t-3,4OHClA (d) (Figura VI.7, espectro representado com linha a cheio e cor preta), verifica-se a existência de três bandas distintas. As bandas de menores frequências são relacionadas com os modos de elongação C-C do anel aromático ($\nu\text{C}_{\text{arom}}$) e a banda de maior frequência é atribuída à elongação do grupo vinílico ($\nu\text{C}_{(7)}=\text{C}_{(8)}$). No entanto, verifica-se a ausência da banda atribuída ao modo de elongação do grupo carbonilo ($\nu\text{C}_{(9)}=\text{O}$), que é esperada ocorrer nesta região. Esta situação parece estar associada à existência, nas estruturas cristalinas dos hóspedes^{92,93,95,98-100}, de dímeros centrossimétricos com duas ligações de hidrogénio formadas entre os grupos carboxílicos, com o grupo hidroxilo a funcionar como grupo doador e o grupo carbonilo como aceitador de hidrogénio da molécula vizinha. É conhecido que os dímeros centrossimétricos dão origem a duas bandas de elongação do grupo carbonilo, simétrica e antissimétrica, que são activas/inactivas em infravermelho e/ou em Raman, respectivamente. Neste caso, verifica-se que as duas bandas em questão são activas em infravermelho mas não são activas em Raman, pelo que são observáveis apenas nos espectros FT-IR (gráfico inserido na Figura VI.7, linha a tracejado e cor preta). Estas observações estão de acordo com outros trabalhos já publicados^{101,102}, nos quais se verificou que a banda de elongação do grupo carbonilo de ácidos carboxílicos associados em dímeros centrossimétricos também não era visível em Raman.

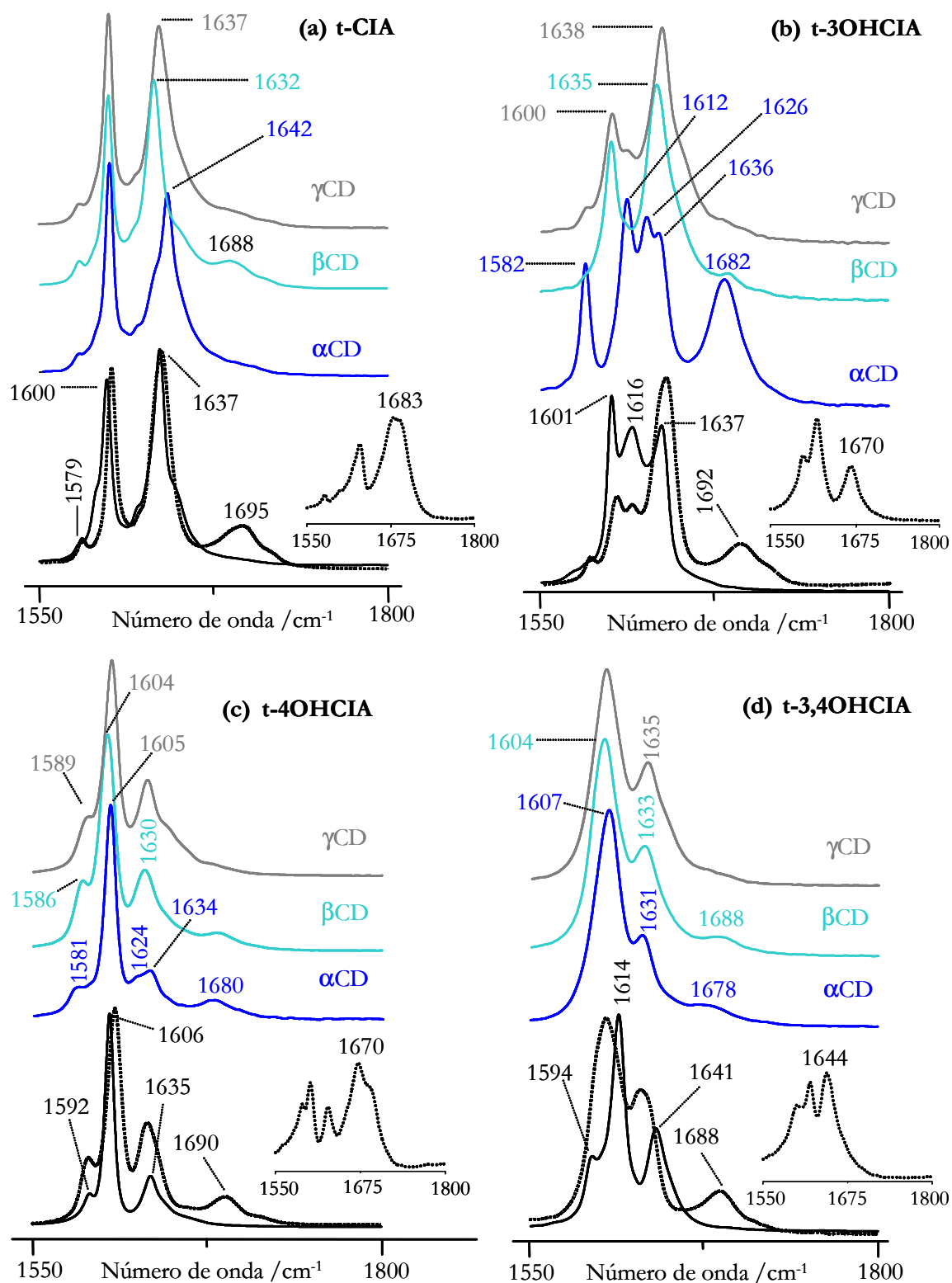


Figura VI.7 – Comparação estabelecida na região 1550-1800 cm^{-1} , entre os espectros de FT-Raman do t-CIA (a), t-3OH CIA (b), t-4OH CIA (c) e t-3,4OH CIA (d) no estado sólido (linha a cheio e cor preta) e os espectros dos correspondentes compostos de inclusão (representados com diferentes cores). Adicionalmente são incluídos os espectros de FT-Raman de soluções dos hóspedes em etanol (linha tracejada, fracção molar do hóspede $x_{\text{hóspede}} = 0.04$) e os espectros FT-IR dos hóspedes puros na região em estudo (gráfico inserido, linha a tracejado).

Na Tabela VI.1 estão apresentadas as frequências vibracionais das bandas dos hóspedes puros no estado sólido, observadas na região 1550-1800 cm^{-1} , e correspondentes atribuições. No caso do t-CIA, as atribuições estabelecidas estão de acordo com outros trabalhos já publicados^{94,97,103,104}.

Tabela VI.1 – Frequências vibracionais (cm^{-1}) das bandas do t-CIA, t-3OHCIA, t-4OHCIA e t-3,4OHCIA puros no estado sólido observadas na região 1550-1800 cm^{-1} por espectroscopia de Raman ($\nu\text{C-C}_{\text{arom}}$, $\nu\text{C}_{(7)}=\text{C}_{(8)}$) e por espectroscopia FT-IR ($\nu\text{C}_{(9)}=\text{O}$).

Modos vibracionais	t-CIA	t-3OHCIA	t-4OHCIA	t-3,4OHCIA
$\nu\text{C-C}_{\text{arom}}$	1579	1601	1592	1594
$\nu\text{C-C}_{\text{arom}}$	1600	1616	1606	1614
$\nu\text{C}_{(7)}=\text{C}_{(8)}$	1637	1637	1635	1641
$\nu\text{C}_{(9)}=\text{O}$	1683	1670	1670	1644

Relativamente aos espectros de Raman dos compostos de inclusão (Figura VI.7, espectros representados com diferentes cores) verifica-se, em certos casos, que durante o processo de inclusão a banda atribuída ao modo de elongação do grupo carbonilo ($\nu\text{C}_{(9)}=\text{O}$) se torna observável no espectro de Raman. Atendendo a que este apresenta uma elevada sensibilidade a variações no ambiente químico, esta situação pode ser explicada pelo facto da inclusão dos vários hóspedes no interior das ciclodextrinas provocar o rompimento dos dímeros centrossimétricos existentes nas estruturas cristalinas dos hóspedes puros e portanto o modo vibracional em questão torna-se activo em Raman.

Adicionalmente, o hóspede incluído pode formar ligações de hidrogénio $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}(=\text{C})$ com os grupos hidroxilo da CD hospedeira ou das moléculas de água existentes na estrutura do composto de inclusão. Dado que estas ligações são mais fracas que as existentes nos hóspedes puros e estabelecem-se sob a forma de dímeros não centrossimétricos, a banda $\nu\text{C}_{(9)}=\text{O}$ torna-se visível no espectro de Raman e é deslocada para maiores frequências (tendo em conta as frequências obtidas para os hóspedes puros por espectroscopia FT-IR). Esta explicação é apoiada pelos estudos de diluição dos hóspedes puros em etanol (Figura VI.7, espectro representado com linha a tracejado e cor preta). Comparando as frequências vibracionais do grupo carbonilo dos hóspedes incluídos nas CDs com aquelas observadas em soluções de etanol, observam-se valores aproximados. Este facto

sugere que o processo de inclusão na CD provoca o mesmo efeito (relativamente ao modo $\nu C_{(9)}=O$) que a diluição. Deste modo, verificando-se, nos estudos de diluição, a dissociação das ligações duplas $O-H \cdots O(=C)$ estabelecidas entre as moléculas dos hóspedes e o estabelecimento de ligações $O-H \cdots O(=C)$ envolvendo o etanol como doador da ligação de hidrogénio, as alterações observadas no grupo carbonilo durante a inclusão podem também ser explicadas em termos da existência de interações específicas hóspede-hospedeiro.

O deslocamento da banda $\nu C_{(9)}=O$ para maiores frequências, pode também ser explicado apenas pela inclusão do grupo carbonilo na ciclodextrina. Dado que os ambientes no interior das ciclodextrinas são apolares, a ligação $C=O$ é menos polarizada, o que corresponde a um maior carácter duplo da ligação e consequentemente uma constante de força superior.

Na interpretação do conjunto total das alterações espectrais verificadas durante o processo de inclusão em termos de possíveis orientações do hóspede no interior das ciclodextrinas, deve-se ter em consideração que a posição do hóspede no interior da cavidade da CD reflecte um balanço entre os tamanhos relativos dos hóspedes e das CDs, a hidrofobicidade do anel aromático e hidrofiliidade do grupo $O-H$.

Considerando como exemplo a região espectral $1550-1800\text{ cm}^{-1}$ dos compostos de inclusão do t-CIA nas várias ciclodextrinas naturais α -, β - e γ -CD (Figura VI.7a), verifica-se que os efeitos mais evidentes do processo de inclusão são observados com o $\alpha CD \bullet tCIA$ e com o $\beta CD \bullet tCIA$ (esta designação serve apenas para indicar qual o tipo de composto de inclusão em estudo e não propriamente a estequiometria deste). Por outro lado, o espectro de Raman do composto de inclusão com a γ -CD, $\gamma CD \bullet tCIA$, é o que mais se assemelha ao espectro do hóspede puro, situação que pode ser explicada pelo facto das moléculas hóspedes manterem aproximadamente o mesmo tipo de interações no interior da cavidade ampla da γ -CD.

Nos diferentes compostos de inclusão com o t-CIA, verifica-se que as bandas atribuídas ao modo $\nu C-C_{\text{arom}}$ (1579 e 1600 cm^{-1}) não apresentam alterações apreciáveis quando se passa do hóspede puro para os compostos de inclusão. Por sua vez, a banda $\nu C_{(7)}=C_{(8)}$ observada a 1637 cm^{-1} no hóspede puro é deslocada para 1642 , 1632 e 1637 cm^{-1} com a inclusão, respectivamente na α -, β - e γ -CD. No caso do composto de inclusão $\beta CD \bullet tCIA$, a banda de elongação do carbonilo torna-se visível a 1688 cm^{-1} , verificando-se assim uma elevada semelhança, na região considerada, entre o espectro de Raman do $\beta CD \bullet tCIA$ e o espectro da solução do t-CIA em etanol.

A região de elongação dos grupos $C-H$ dos compostos de inclusão do t-CIA apresenta também algumas alterações espectrais resultantes do processo de inclusão (Figura VI.8).

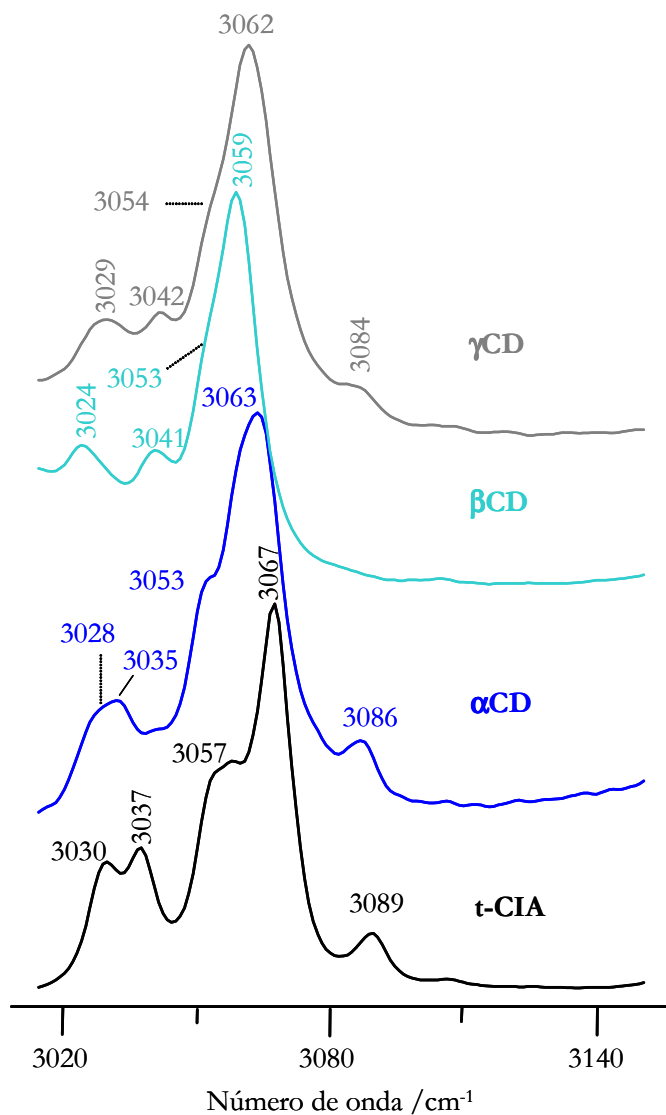


Figura VI.8 – Comparação estabelecida na região 3020-3150 cm^{-1} , entre os espectros de FT-Raman do t-CIA no estado sólido e os espectros de FT-Raman dos compostos de inclusão com a α -, β - e γ -CD.

Na região espectral 3020-3150 cm^{-1} do t-CIA puro no estado sólido verifica-se a presença das bandas atribuídas aos modos de elongação dos grupos $C-H$ pertencentes ao grupo vinílico e ao anel aromático. As bandas observadas aproximadamente a 3037 cm^{-1} e 3089 cm^{-1} são atribuídas, tendo em conta os cálculos *ab initio* realizados para a molécula isolada, aos modos $\nu=C_{(8)}-H$ e $\nu=C_{(7)}-H$, respectivamente. As restantes bandas observadas a 3030, 3057 e 3067 cm^{-1} são atribuídas aos modos $\nu C-H_{\text{arom}}$.

Pela análise da Figura VI.8, verifica-se que os efeitos do processo de inclusão são observáveis nas bandas atribuídas aos diferentes grupos *C-H* e para os vários compostos de inclusão. A elevada sensibilidade apresentada pelos modos de elongação dos grupos *C-H* do anel aromático durante o processo de inclusão foi já demonstrada em estudos de compostos de inclusão envolvendo hóspedes aromáticos^{68,71-73}.

Os efeitos mais evidentes do processo de inclusão são observados com o $\beta\text{CD} \bullet t\text{CIA}$, verificando-se um desvio de 8 cm^{-1} para menores valores de frequência da banda a 3067 cm^{-1} (atribuída ao modo $\nu\text{C-H}_{\text{arom}}$) e o desvio da banda a 3089 cm^{-1} (atribuída ao modo $\nu=\text{C}_{(7)}-\text{H}$) para menores frequências, ficando sobreposta à banda situada a 3059 cm^{-1} .

As alterações espectrais verificadas no composto de inclusão $\beta\text{CD} \bullet t\text{CIA}$, nas regiões discutidas anteriormente, podem ser interpretadas em termos da existência de um processo de inclusão no qual a molécula do t-CIA é incluída totalmente no interior da cavidade da $\beta\text{-CD}$, havendo a possibilidade de se formarem ligações de hidrogénio $\text{O}-\text{H} \cdots \text{O}(=\text{C})$ entre o grupo carbonilo da molécula hóspede e os grupos hidroxilo da CD hospedeira ou das moléculas de água estruturais. Esta interpretação está de acordo com a estrutura cristalina determinada para o composto de inclusão 1:1 da $\beta\text{-CD}$ com o t-CIA¹⁰⁵, na qual se verifica a presença de ligações de hidrogénio entre o grupo carbonilo do t-CIA e os hidroxilos das moléculas de água situadas no espaço interdimérico do canal hidrofóbico.

Depois de confirmada a formação dos compostos de inclusão da α -, β - e γ -CD com o hóspedes t-CIA, t-3OHCIA, t-4OHCIA e t-3,4OHCIA procedeu-se à determinação da estequiometria destes. Apesar dos compostos de inclusão terem sido preparados a partir de uma solução aquosa numa estequiometria de 1:1 (ver detalhes na Secção VIII.1.5.1 do Capítulo VIII), a mesma estequiometria não é garantida no estado cristalino.

A aplicação da análise termogravimétrica no estudo de compostos de inclusão permite obter informações directas sobre a razão molar hóspede/hospedeiro e consequentemente é possível inferir acerca da estequiometria do composto de inclusão. Dado que na análise termogravimétrica (TGA) a perda de massa é registada em função da temperatura aplicada⁶², e dado que os compostos de inclusão, pelo facto de terem sido preparados a partir de uma solução aquosa, são considerados sistemas ternários $\text{CD}/x\text{H}_2\text{O}/y\text{hóspede}$ (em que x e y representam, respectivamente, o número de moléculas de H_2O ligadas e de moléculas de

hóspede por CD) é possível determinar a estequiometria de inclusão pela quantificação da perda de massa com o aumento da temperatura.

Na Figura VI.9 é estabelecida a comparação entre os termogramas da β -CD, do t-CIA puro e do composto de inclusão $\beta CD \bullet tCIA$. Dado que o processo de inclusão corresponde à troca de algumas moléculas de água de hidratação pela molécula hóspede, a primeira variação na massa do composto de inclusão $\beta CD \bullet tCIA$ corresponde à perda de água (aproximadamente 11% de massa, passo (1) da Figura VI.9) e ocorre a uma temperatura aproximada da verificada com a β -CD, mas em quantidade inferior. Depois do processo de desidratação do $\beta CD \bullet tCIA$ estar completo, verifica-se a dissociação do composto de inclusão e evaporação do hóspede com uma correspondente perda de massa de 10% (passo (2) da Figura VI.9) e finalmente a decomposição térmica da β -CD (passo (3) da Figura VI.9).

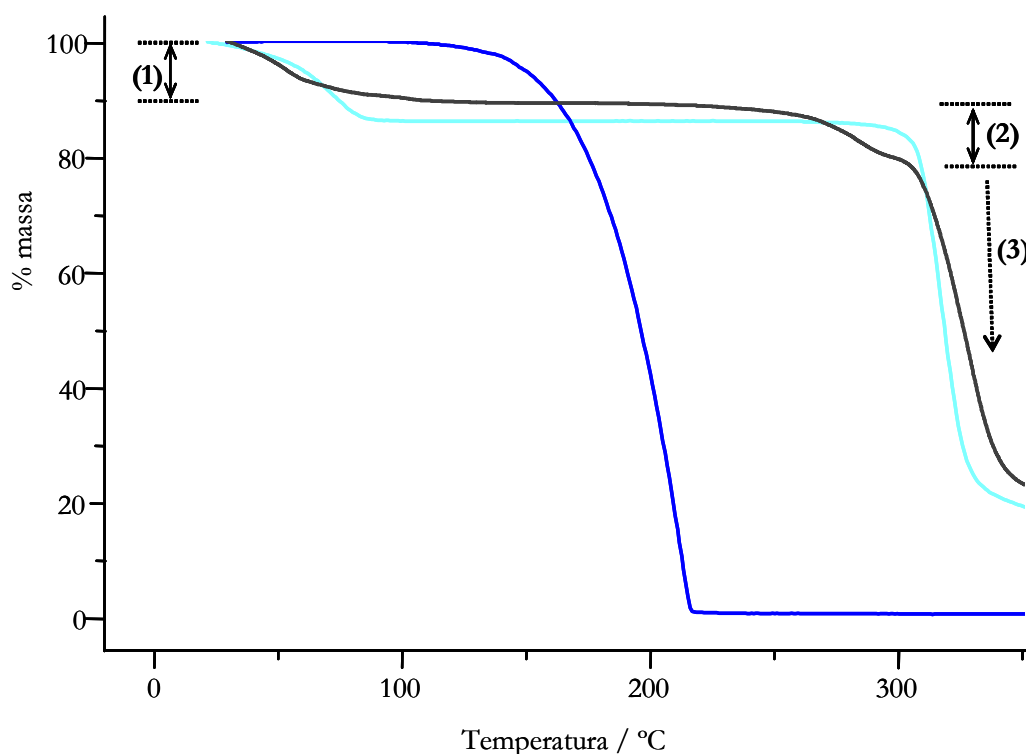


Figura VI.9 – Termogramas, no intervalo de temperaturas 0-350°C, do composto de inclusão $\beta CD \bullet tCIA$ (linha a preto), da β -CD (linha a azul ciano) e do hóspede puro t-CIA (linha a azul).

Este tipo de análise foi efectuado para os vários compostos de inclusão e os resultados obtidos, inclusivamente a estequiometria de inclusão, estão resumidos na Tabela VI.2.

Tabela VI.2 – Estequiometrias dos compostos de inclusão calculadas com base nas análises termogravimétricas (TGA).

Compostos de inclusão	% (hóspede)	% (H ₂ O)	Estequiometria do composto	Moléculas de H ₂ O por CD
$\alpha\text{CD} \bullet t\text{CIA}$	7.16	20.31	2:1	15
$\alpha\text{CD} \bullet t3\text{OHClA}$	6.49	9.09	2:1	6
$\alpha\text{CD} \bullet t4\text{OHClA}$	7.48	11.99	2:1	8
$\alpha\text{CD} \bullet t3,4\text{OHClA}$	5.67	7.05	2:1	4
$\beta\text{CD} \bullet t\text{CIA}$	9.73	10.86	1:1	7
$\beta\text{CD} \bullet t3\text{OHClA}$	7.54	12.52	1:1	10
$\beta\text{CD} \bullet t4\text{OHClA}$	9.50	11.08	1:1	9
$\beta\text{CD} \bullet t3,4\text{OHClA}$	8.04	14.11	1:1	11
$\gamma\text{CD} \bullet t\text{CIA}$	17.41	12.40	1:2	13
$\gamma\text{CD} \bullet t3\text{OHClA}$	7.63	12.11	1:1	11
$\gamma\text{CD} \bullet t4\text{OHClA}$	6.62	15.30	1:1	14
$\gamma\text{CD} \bullet t3,4\text{OHClA}$	6.70	15.28	1:1	14

Nos compostos de inclusão dos vários hóspedes na α -CD e na β -CD, obtiveram-se, respectivamente, estequiometrias de inclusão de 2:1 e 1:1. Estes resultados estão em concordância com os obtidos num trabalho já publicado, envolvendo o estudo de compostos de inclusão com hóspedes aromáticos⁶⁸. A dimensão da cavidade da α -CD não é suficiente para acomodar o hóspede, ficando este preso no interior do dímero estabelecido por duas α -CD. No caso da β -CD, a dimensão da sua cavidade é suficiente para permitir a inclusão do hóspede na sua totalidade.

Considerando os compostos de inclusão com a γ -CD, verifica-se a estequiometria esperada de 1:2 no caso do $\gamma\text{CD} \bullet t\text{CIA}$. De facto, a cavidade da γ -CD é suficientemente ampla para acomodar no seu interior duas moléculas do hóspede t-CIA. No entanto, quando se consideram os hóspedes t-3OHClA, t-4OHClA e t-3,4OHClA verifica-se uma estequiometria de 1:1. Esta situação pode ser explicada pelo facto dos substituintes hidroxilo existentes no anel aromático serem relativamente volumosos, impedindo assim que duas moléculas hóspedes possam ser acomodadas no interior da γ -CD.

VI.2.3 – Conclusões

Os compostos de inclusão do ácido trans-cinâmico e seus derivados fenólicos em ciclodextrinas naturais α -, β - e γ -CD foram preparados, no estado sólido, e estudados por espectroscopia de Raman e por análise termogravimétrica.

As alterações espectrais em regiões bem caracterizadas dos espectros vibracionais dos vários compostos de inclusão foram justificadas em termos de selectividade conformacional e de interacções específicas entre hóspede e hospedeiro.

Na inclusão do t-CIA na α -CD e na γ -CD, verificou-se que não existe uma preferência conformacional por um determinado confórmero, havendo assim inclusão dos dois confórmeros S-cis (1) e S-trans (2). No caso da inclusão na β CD, verificou-se que esta apresenta uma selectividade por um determinado confórmero da molécula hóspede, neste caso pelo confórmero S-cis (1).

Adicionalmente, no caso do composto de inclusão β CD • tCIA, verifica-se a formação de interacções específicas hóspede-hospedeiro, particularmente ligações de hidrogénio envolvendo o grupo cabonilo como aceitador e os grupos hidroxilo das moléculas de água como doadores (em concordância com a estrutura cristalina publicada¹⁰⁵).

As estequiometrias de inclusão foram calculadas quantitativamente por análise termogravimétrica. Os resultados são consistentes com a formação de compostos de inclusão 2:1 e 1:1, obtidos com as ciclodextrinas hospedeiras, α -CD e β -CD. No caso da γ -CD, obtiveram-se diferentes estequiometrias consoante os hóspedes em estudo. No caso do composto de inclusão γ CD • tCIA obteve-se uma estequiometria 1:2, enquanto que para os restantes compostos de inclusão envolvendo os hóspedes com substituintes hidroxilo no anel aromático, verificou-se uma estequiometria de 1:1.

VI.3 – Compostos de inclusão do bisciclopentadienildicloreto de nióbio

VI.3.1 – Introdução

A capacidade das ciclodextrinas para formarem uma segunda esfera de coordenação em complexos organometálicos tem sido demonstrada por vários investigadores^{1,14-37}. De facto, a coordenação do substrato orgânico (ligando) a um centro metálico – complexos organometálicos – traduz-se por uma elevado carácter hidrofóbico e portanto uma grande afinidade para formar compostos de inclusão com ciclodextrinas. Moléculas detentoras de ligandos hidrofóbicos como o ciclopentadienilo ($\text{Cp}=\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5$) encontram-se entre os hóspedes apropriados para a inclusão em ciclodextrinas¹. Na literatura têm sido descritos alguns compostos de inclusão de ciclodextrinas com o ferroceno e seus derivados¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ e com alguns dihalogenetos de metallocenos Cp_2MX_2 ($\text{M} = \text{Ti, V, Mo; X} = \text{F, Cl}$)^{32,109,110}.

Estes últimos compostos revestem-se de elevada importância. De facto, existem diversos dihalogenetos de metallocenos Cp_2MX_2 ($\text{M} = \text{Ti, V, Mo, Nb; X} = \text{F, Cl, Br, I}$)^{111,112} com propriedades anti-tumorais, à semelhança de compostos de coordenação com ruténio(II) e ruténio(III)^{113,114} e que constituem alternativas à cis-platina (*cis*- $\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2$), conhecida pelas mesmas propriedades¹¹⁵.

Nos últimos anos, têm sido realizados alguns esforços para desenvolver novos complexos de metais de transição como agentes anti-tumorais¹¹⁶, uma vez que a cis-platina apresenta, para além de problemas de solubilidade, diversos efeitos secundários. Adicionalmente, verifica-se em certas situações alguma resistência das células cancerígenas em relação à cis-platina. Neste contexto, foram estudadas algumas versões modificadas da cis-platina (designadas drogas de segunda e terceira geração), tais como a carboplatina e oxaliplatina¹¹⁷, e desenvolvidos agentes anti-tumorais com base em novos compostos de metais de transição.

O dicloreto de titanoceno (Cp_2TiCl_2) foi o primeiro complexo metálico sem platina com experimentação clínica. Contudo, quer a instabilidade hidrolítica quer o falhanço nos resultados obtidos nos ensaios clínicos de fase II, levaram à investigação de outros dihalogenetos de metallocenos¹¹⁸. Embora estes compostos sejam isostruturais, exibem hidrólises químicas características e as diferentes coordenações das espécies presentes no pH fisiológico implicam mecanismos de acção anti-tumoral significativamente diferentes para cada complexo^{111,119}.

As drogas estabelecidas com metais apresentam, no entanto, algumas desvantagens. A baixa solubilidade em soluções aquosas bem como a baixa estabilidade são alguns exemplos. A inclusão destas moléculas em ciclodextrinas pode contribuir para melhorar as suas características físico-químicas e a sua disponibilidade biológica, bem como reduzir os efeitos secundários tóxicos^{20,120-123}.

Os estudos realizados por espectroscopia de RMN e em solução, em complexos de inclusão do Cp_2TiCl_2 em ciclodextrinas naturais α -, β - e γ -CD¹⁰⁹, demonstraram que os produtos de hidrólise $[\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{H}_2\text{O})(\text{Cl})]^+$ e $[\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$ foram as espécies incorporadas nas cavidades da β -CD e da γ -CD. Infelizmente, o grau de complexação dos produtos isolados no estado sólido não pode ser determinado.

A inclusão do bisciclopentadienildicloreto de molibdénio, Cp_2MoCl_2 , em β -CD³², permitiu obter um material microcristalino numa proporção estequiométrica 1:1, determinada pela combinação de métodos de caracterização de estado sólido e cálculos *ab initio*. Complementarmente, a análise efectuada demonstrou que o composto Cp_2MoCl_2 foi a espécie incorporada na cavidade da CD e não as espécies $[\text{Cp}_2\text{Mo}(\text{H}_2\text{O})(\text{Cl})]^+$ e $[\text{Cp}_2\text{Mo}(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$. Os estudos de citotoxicidade realizados em células humanas e cancerosas, especificamente células de adenocarcinoma, demonstraram que a actividade anti-tumoral do Cp_2MoCl_2 pode ser melhorada pela associação com ciclodextrinas, em particular a hexaquis-2,3,6-tri-O-metil-ciclodextrina- β -CD (TRIMEB)²³.

No seguimento da investigação desenvolvida, é de interesse explorar a inclusão do bisciclopentadienildicloreto de nióbio (Cp_2NbCl_2) em β -CD e TRIMEB. Neste contexto, são apresentados seguidamente os resultados obtidos experimentalmente (por espectroscopia vibracional FT-IR e FT-Raman) e teoricamente (por cálculos *ab initio*).

VI.3. 2 – Discussão dos resultados obtidos por espectroscopia vibracional e cálculos *ab initio*

Os espectros de FT-IR e FT-Raman dos compostos Cp_2NbCl_2 (1), β -CD· Cp_2NbCl_2 (1a) e TRIMEB-CD· Cp_2NbCl_2 (1b) compreendidos na região 100-1800 cm^{-1} encontram-se representados na Figura VI.10. Os espectros obtidos para os dois compostos de inclusão contêm várias bandas que são coincidentes com as bandas típicas da β -CD e da TRIMEB, sugerindo assim que a integridade química da CD é preservada durante a inclusão do hóspede Cp_2NbCl_2 . Por sua vez, pequenas alterações podem ser observadas nos espectros dos compostos de inclusão (1a e 1b) relativamente ao hóspede organometálico livre (1). Essas

alterações ocorrem principalmente nas bandas com máximos situados a 820 e 1433 cm^{-1} . De acordo com os cálculos *ab initio* efectuados para o hóspede Cp_2NbCl_2 (ver detalhes na Secção VIII.2 do Capítulo VIII), a banda a 820 cm^{-1} pode ser atribuída aos modos de deformação fora do plano dos grupos C-H ($\gamma\text{C-H}$), enquanto que a banda a 1433 cm^{-1} pode ser atribuída à elongação simétrica da ligação C-C do anel do ciclopentadienilo ($\nu\text{C-C}$). Estas atribuições estão de acordo com as descritas na literatura¹²⁴. A banda a 820 cm^{-1} apresenta fraca intensidade no composto de inclusão com a TRIMEB (1b) e é completamente ausente no composto de inclusão com a β -CD (1a), enquanto que a outra banda $\gamma\text{C-H}$ situada a 850 cm^{-1} permanece praticamente inalterada. O comportamento da banda a 820 cm^{-1} pode ser associado a uma interacção hóspede-hospedeiro e sugere que essa interacção é mais forte quando se verifica a inclusão do Cp_2NbCl_2 na β -CD do que na TRIMEB. A banda a 1433 cm^{-1} é desviada para maiores frequências: 1435 cm^{-1} no composto 1a e 1440 cm^{-1} no composto 1b.

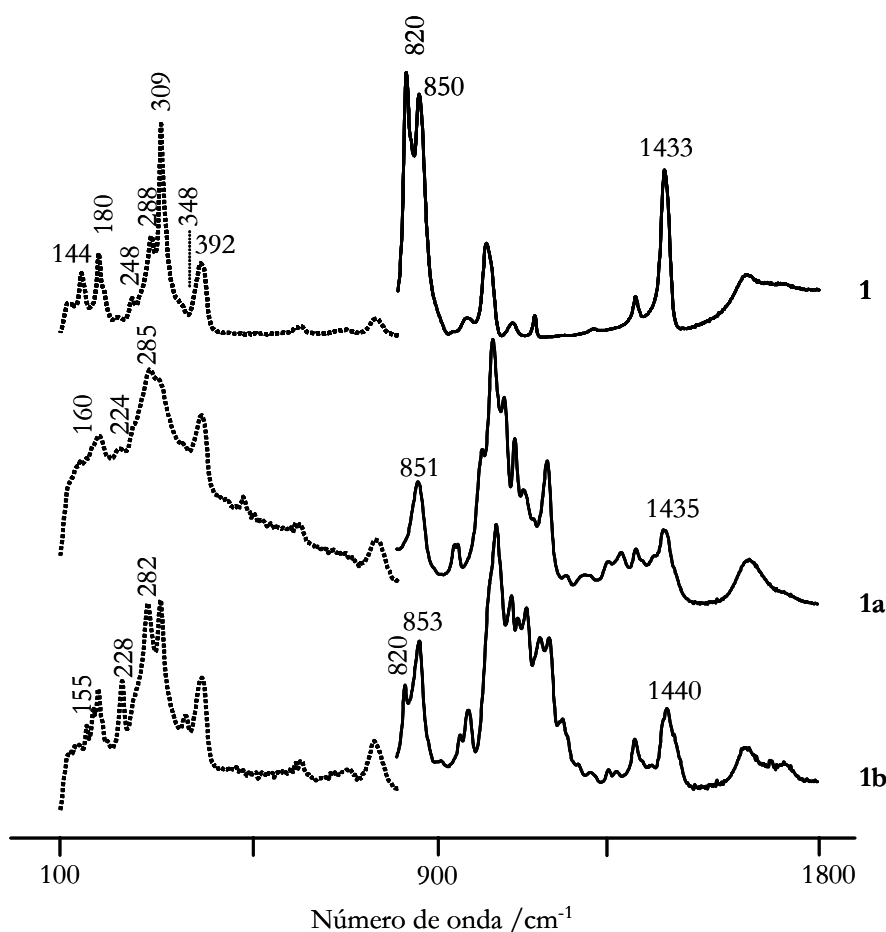


Figura VI.10 – Espectros de FT-Raman (a tracejado) e de FT-IR (a cheio) do Cp_2NbCl_2 (1) β -CD- Cp_2NbCl_2 (1a) e TRIMEB-CD- Cp_2NbCl_2 (1b) na região compreendida entre 100-1800 cm^{-1} .

Na Tabela VI.3 são apresentados os valores de frequência e correspondentes descrições aproximadas das bandas observadas na região compreendida entre 100-400 cm^{-1} . Neste intervalo de frequências verificam-se as vibrações metal-ligando (Nb-Cl e Nb-Cp), vibrações para as quais são esperadas alterações significativas devido ao efeito do processo de inclusão. De facto, enquanto que o modo de elongação da ligação Nb-Cp, $\nu_{\text{Nb-Cp}}$, é praticamente insensível ao processo de inclusão, o modo de elongação assimétrico da ligação Nb-Cl, $\nu_{\text{as}}(\text{Nb-Cl})$, é desviado para menores frequências (desvio para o vermelho), verificando-se um desvio de 24 cm^{-1} para o composto 1a e 20 cm^{-1} para o composto 1b, relativamente ao composto 1. Em contraste, a deformação Cp-Nb-Cp, $\delta(\text{Cp-Nb-Cp})$, apresenta um desvio para maiores frequências de cerca de 16 cm^{-1} , comparando o composto 1 com 1a, e cerca de 11 cm^{-1} , comparando o composto 1 com 1b.

Tabela VI.3 – Frequências vibracionais (cm^{-1}), obtidas experimentalmente por espectroscopia de Raman, para o Cp_2NbCl_2 (1), $\beta\text{-CD-Cp}_2\text{NbCl}_2$ (1a) e $\text{TRIMEB-CD-Cp}_2\text{NbCl}_2$ (1b) na região compreendida entre 100-400 cm^{-1} . As descrições aproximadas para as bandas observadas estão também incluídas.

Calculado ^[a]		Raman		Descrição
1	1	1a	1b	aproximada ^[b]
139	144	160	155	$\delta(\text{Cp-Nb-Cp})$
160	180	180	180	$\delta(\text{Cl-Nb-Cl})$
243	248	224	228	$\nu_{\text{as}}(\text{Nb-Cl})$
248	288	285	282	$\nu_{\text{s}}(\text{Nb-Cl})$
276	309	309	309	$\nu_{\text{s}}(\text{Nb-Cp})$
331	348	348	348	$t(\text{Cp})$
337	392	392	392	$\nu_{\text{as}}(\text{Nb-Cp})$

[a] Valores calculados ao nível B3LYP (factor de correcção = 0.961)

[b] ν = elongação; δ = deformação; t = inclinação

As geometrias de inclusão organometálico-ciclodextrina foram investigadas por cálculos *ab initio* (ver detalhes na Secção VIII.2 do Capítulo VIII), usando a aproximação de corpo-rígido. Apesar desta aproximação não ter em consideração a não-rigidez, tem sido demonstrado que fornece pistas valiosas acerca de possíveis geometrias de inclusão bem como da mobilidade do hóspede^{30,31}. Adicionalmente, apesar desta aproximação não contabilizar

nem os efeitos das moléculas de água de hidratação nem o empacotamento molecular, permite criar um modelo que ajuda a consolidar alguns dos resultados obtidos experimentalmente.

De maneira a obter possíveis geometrias de interação, as energias de diferentes geometrias de inclusão, obtidas por aproximação do hóspede ao hospedeiro em diferentes posições de inclusão na cavidade do hospedeiro, foram calculadas pontualmente para cada posição (Figura VI.11).

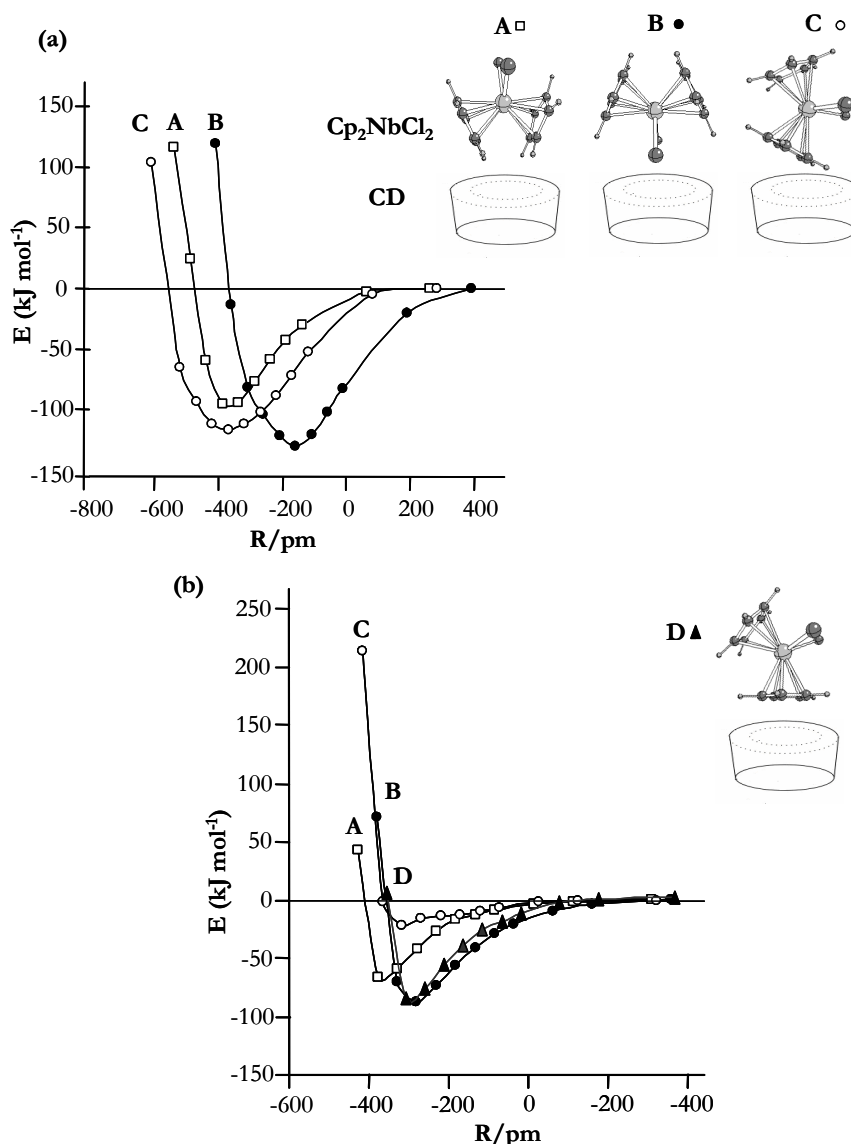


Figura VI.11 – Representação da energia (E , kJ mol^{-1}) em função da distância hóspede-hospedeiro e (R , pm) para as diferentes geometrias de inclusão do Cp_2NbCl_2 na $\beta\text{-CD}$ (a) e na TRIMEB (b). As estruturas A e B permitem a inclusão de ambos os ligandos ciclopentadienilos (Cp), enquanto que as estruturas C e D permite a inclusão de apenas um Cp no interior da cavidade da CD. R é definido como a distância entre o plano formado pelos átomos de hidrogénio dos grupos hidroxilo secundários da $\beta\text{-CD}$ ou grupos metoxilo da TRIMEB e o átomo da molécula Cp_2NbCl_2 que mais se aproxima do plano. Os valores negativos obtidos para R referem-se aos átomos dentro da cavidade da ciclodextrina.

A Figura VI.11a apresenta os resultados obtidos com o composto $\beta\text{-CD}\text{Cp}_2\text{NbCl}_2$ (1a) para as três geometrias de inclusão representativas. As estruturas A e B permitem a inclusão de ambos os ligandos ciclopentadienilos (Cp), enquanto que a estrutura C permite a inclusão de apenas um Cp.

A fiabilidade das geometrias de inclusão obtidas a diferentes níveis computacionais foi recentemente avaliada por *Casadesús* e col.¹²⁵, tendo por base a ocorrência de contactos $\text{H}\cdots\text{H}$ irrealistas entre os hóspedes e os hospedeiros. As estruturas A e B contendo a $\beta\text{-CD}$ como molécula hospedeira apresentam apenas dois contactos $\text{H}\cdots\text{H}$ com distâncias no intervalo 165-200 pm, enquanto que na estrutura C não se verifica nenhum. Como demonstrado por *Casadesús* e col.¹²⁵, a presença de um pequeno número de contactos de curta distância é aceitável e valores abaixo dos 200 pm não são necessariamente irrealistas. Assim sendo, as estruturas calculadas podem ser consideradas plausíveis, apesar das limitações desta aproximação.

Os perfis energéticos obtidos na inclusão do Cp_2NbCl_2 na $\beta\text{-CD}$ mostram que as diferenças energéticas entre os mínimos obtidos são pequenas (Figura VI.11a). Deste modo, é concebível que as três estruturas possam competir à temperatura ambiente e que a orientação da molécula hóspede Cp_2NbCl_2 no interior da cavidade pode variar facilmente. Os resultados mostram que a estrutura mais estável (de menor energia) é a estrutura B que permite a inclusão superficial de ambos os ligandos ciclopentadienilos (Figura VI.12a), enquanto que uma inclusão mais profunda é obtida com a estrutura C (Figura VI.12b). Em ambos os casos, é esperado que o processo de inclusão provoque alterações observáveis nas vibrações das ligações Nb-Cl, como discutido anteriormente.

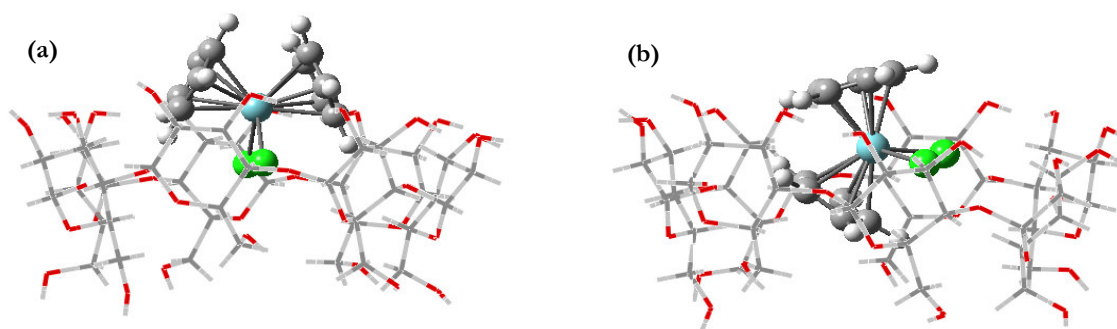


Figura VI.12 – Representação esquemática das geometrias de inclusão de menores energias obtidas na inclusão do Cp_2NbCl_2 na $\beta\text{-CD}$.

Na Figura VI.11b estão representados os perfis energéticos obtidos para as diferentes geometrias de inclusão do Cp_2NbCl_2 na TRIMEB. Em adição aos resultados obtidos com as estruturas A, B, e C, estão representados os obtidos com uma geometria de inclusão (D) obtida por difracção de raios-X de pós e considerada como modelo estrutural. A estrutura D é claramente plausível, apresentando um perfil energético de inclusão coincidente com o obtido para a estrutura B, considerada a de menor energia. Contudo, as diferenças energéticas entre os mínimos obtidos para as estruturas A, B e D são pequenas, permitindo assim ao organometálico Cp_2NbCl_2 alguma liberdade de orientação no interior da cavidade da TRIMEB.

VI.3.3 – Conclusões

A combinação da espectroscopia vibracional com os cálculos *ab initio* permitiram explorar as possíveis geometrias de inclusão bem como estabelecer o cálculo das frequências vibracionais do Cp_2NbCl_2 na região compreendida entre 100-1800 cm^{-1} .

A análise dos espectros vibracionais indica que o hóspede e o hospedeiro mantêm a sua integridade química aquando da inclusão. Pequenos desvios nos valores de frequência verificados em alguns modos vibracionais C-H, C-C e metal-ligando são atribuídos ao efeito da interacção hóspede-hospedeiro.

No composto $\beta\text{-CD}\cdot\text{Cp}_2\text{NbCl}_2$, a estrutura mais estável envolve a inclusão superficial de ambos os Cp. No caso do composto $\text{TRIMEB}\cdot\text{CD}\cdot\text{Cp}_2\text{NbCl}_2$, a inclusão é estabelecida pela inserção de apenas um dos Cp no interior da cavidade da TRIMEB, situação que é apoiada pelo modelo estrutural obtido por difracção de raios-X.

VI.4 – Bibliografia

1. Fenyvesi, É., Szente L., Russel N.R., McNamara M., 1996, editado por Szejtli L. e Osa T. em: Atwood J. E., Davies J. E. D., MacNiol D. D., Vögtle F., Lehn J.-M., *Comprehensive supramolecular chemistry*, vol.3, cap.10, 305-366, Pergamon, Oxford.
2. Szejtli J 1998. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chem Rev* 98:1743-1753.
3. Rekhsarsky MV, Inoue Y 1998. Complexation thermodynamics of cyclodextrins. *Chem Rev* 98:1875-1917.
4. Braga SS, Ribeiro-Claro P, Pillinger M, Gonçalves IS, Pereira F, Fernandes AC, Romão CC, Correia PB, Teixeira-Dias JJC 2003. Encapsulation of sodium nimesulide and precursors in β -cyclodextrin. *Org Biomol Chem* 1:873-878.
5. Braga SS, Gonçalves IS, Herdtweck E, Teixeira-Dias JJC 2003. Solid state inclusion compound of S-ibuprofen in β -cyclodextrin: structure and characterisation. *New J Chem* 27:597-601.
6. Braga SS, Ribeiro-Claro PJA, Pillinger M, Gonçalves IS, Fernandes AC, Pereira F, Romão CC, Correia PB, Teixeira-Dias JJC 2003. Interactions of omeprazole and precursors with β -cyclodextrin host molecules. *J Incl Phenom Macro Chem* 47:47-52.
7. Harada A 2001. Cyclodextrin-based molecular machines. *Acc Chem Res* 34:456-464.
8. Braga SS, Aree T, Imamura K, Vertut P, Boal-Palheiros I, Saenger W, Teixeira-Dias JJC 2002. Structure of the β -Cyclodextrin p-Hydroxybenzaldehyde Inclusion Complex in Aqueous Solution and in the Crystalline State. *J Incl Phenom Macrocyclic Chem* 43:115-125.
9. Cunha-Silva L, Teixeira-Dias JJC 2002. Solid state inclusion of the nonionic surfactant $C_{12}E_4$ in β -Cyclodextrin, at various humidities: a combined raman and ^{13}C CP MAS NMR Study. *J Phys Chem B* 106:3323-3328.
10. Cunha-Silva L, Teixeira-Dias JJC 2004. How humidity affects the solid-state inclusion of 2-phenoxyethanol in β -cyclodextrin: a comparison with β -cyclodextrin. *New J Chem* 28:200-206.
11. Cunha-Silva L, Teixeira-Dias JJC 2005. Solid-state inclusion compounds of small amphiphilic molecules (C_nE_m) in β -cyclodextrin: a study at defined relative humidities. *New J Chem* 29:1335-1341.
12. Moreira da Silva AM, Empis JMA, Teixeira-Dias JJC 2002. Inclusion of carvone enantiomers in cyclomaltoheptaose (β -cyclodextrin): thermal behaviour and H-D and D-H exchange. *Carbohydrate Res* 337:2501-2504.
13. Jiao H, Goh SH, Valiyaveetil S 2001. Inclusion complexes of poly(neopentyl glycol sebacate) with cyclodextrins. *Macromolecules* 34:8138-8142.
14. Braga SS, Gonçalves IS, Lopes AD, Pillinger M, Rocha J, Romão CC, Teixeira-Dias JJC 2000. Encapsulation of half-sandwich complexes of molybdenum with β -cyclodextrin. *Dalton Trans* 2964-2968.
15. Lima S, Gonçalves IS, Ribeiro-Claro PJA, Pillinger M, Lopes AD, Ferreira P, Teixeira-Dias JJC, Rocha J, Romão CC 2001. Interactions of cationic and neutral molybdenum complexes with β -cyclodextrin host molecules. *Organometallics* 20:2191-2197.
16. Song L, Meng Q, You X 1995. Preparation and properties of inclusion compound of cyclopentadienylmanganese tricarbonyl complex with a β -cyclodextrin dimer. *J Organomet Chem* 498:C1-C5.
17. Toma SH, Uemi M, Nikolaou S, Tomazela DM, Eberlin MN, Toma HE 2004. {trans-1,4-Bis[(4-pyridyl)ethenyl]benzene}(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) complexes and their supramolecular assemblies with β -cyclodextrin. *Inorg Chem* 43:3521-3527.

18. Lu C, Ni Z, Liu W, Zou Y, Xie J, Ni C, Zhu H, Meng Q, Yao Y 2003. Intramolecular photo-substitution in the inclusion compound of mono[6-deoxy-6-(2-aminoethyl thio-1,2-dicyane ethylenylthio)]- β -cyclodextrin with cyclopentadienyl manganese tricarbonyl in DMF solution. *J Organomet Chem* 681:269-274.
19. Pospíšil L, Hromadová M, Fiedler JB, Amatore C, Verpeaux JN 2003. Redox activation of dicarbonyl(η^5 -cyclopentadienyl)methyl iron within the cavity of β -cyclodextrin: carbon monoxide insertion in iron/methyl bond. *J Organomet Chem* 668:9-16.
20. Hapiot F, Tilloy S, Monflier E 2006. Cyclodextrins as supramolecular hosts for organometallic complexes. *Chem Rev* 106:767-781.
21. Braga SS, Gonçalves IS, Ribeiro-Claro PJA, Lopes AD, Pillinger M, Teixeira-Dias JJC, Rocha J, Romão CC 2002. Encapsulation of cyano(cyclopentadienyl) complexes of iron with β -cyclodextrin. *Supramol Chem* 14:359-366.
22. Petrovski Z, Braga SS, Santos AM, Rodrigues SS, Gonçalves IS, Pillinger M, Kühn FE, Romão CC 2005. Synthesis and characterization of the inclusion compound of a ferrocenyldiimine dioxomolybdenum complex with heptakis-2,3,6-tri-O-methyl- β -cyclodextrin. *Inorg Chim Acta* 358:981-988.
23. Braga SS, Marques MPM, Sousa JB, Pillinger M, Teixeira-Dias JJC, Gonçalves IS 2005. Inclusion of molybdenocene dichloride (Cp_2MoCl_2) in 2-hydroxypropyl- and with trimethyl- β -cyclodextrin: structural and biological properties. *J Organomet Chem* 690:2905-2912.
24. Colquhoun HM, Stoddart JF, Williams DJ 1986. Second-Sphere coordination - a novel role for molecular receptors. *Angew Chem Int Ed Engl* 25:487-507.
25. Sokolov VI 1995. Optically active organometallic compounds (a personal account from the inside). *J Organomet Chem* 500:299-306.
26. Kaifer AE 1999. Interplay between molecular recognition and redox chemistry. *Acc Chem Res* 32:62-71.
27. Dong SD, Breslow R 1998. Bifunctional cyclodextrin metaloenzyme mimics. *Tetrahedron Lett* 39:9343-9346.
28. Breslow R, Dong SD 1998. Biomimetic reactions catalyzed by cyclodextrins and their derivatives. *Chem Rev* 98:1997-2011.
29. Barr L, Dumanski PG, Easton CJ, Harper JB, Lee K, Lincoln SF, Meyer AG, Simpson JS 2004. Cyclodextrin molecular reactors. *J Incl Phenom Macro Chem* 50:19-24.
30. Fernandes JA, Lima S, Braga SS, Ribeiro-Claro P, Rodriguez-Borges JE, Teixeira C, Pillinger M, Teixeira-Dias JJC, Gonçalves IS 2005. Inclusion complex formation of diferrocenyldimethylsilane with β -cyclodextrin. *J Organomet Chem* 690:4801-4808.
31. Fernandes JA, Lima S, Braga SS, Pillinger M, Rodriguez-Borges JE, Ribeiro-Claro PJA, Teixeira-Dias JJC, Gonçalves IS 2005. Experimental and Theoretical Study of the Encapsulation of a Linear Oligo(ferrocenylsilane) Trimer with β -Cyclodextrin. *Eur J Inorg Chem* 4729-4734.
32. Braga SS, Gonçalves IS, Pillinger M, Ribeiro-Claro PJA, Teixeira-Dias JJC 2001. Experimental and theoretical study of the interaction of molybdenocene dichloride (Cp_2MoCl_2) with β -cyclodextrin. *J Organomet Chem* 632:11-16.
33. Petrovski Z, Braga SS, Rodrigues SS, Pereira CCL, Gonçalves IS, Pillinger M, Freire C, Romão CC 2005. Synthesis of ferrocenyldiimine metal carbonyl complexes and an investigation of the Mo adduct encapsulated in cyclodextrin. *New J Chem* 29:347-354.
34. Ferreira P, Gonçalves IS, Pillinger M, Rocha J, Santos P, Teixeira-Dias JJC 2000. Modification of β -cyclodextrin with ferrocenyl groups by ring opening of an encapsulated [1]ferrocenophane. *Organometallics* 19:1455-1457.

35. Fernandes JA, Lima S, Braga SS, Pillinger M, Ribeiro-Claro P, Rodriguez-Borges JE, Lopes AD, Teixeira-Dias JJC, Gonçalves IS 2005. Inclusion complexation of dimeric and trimeric oligo(ferrocenyldimethylsilanes) with γ -cyclodextrin. *Organometallics* 24:5673-5677.
36. Cunha-Silva L, Gonçalves IS, Pillinger M, Xue W-M, Rocha J, Teixeira-Dias JJC, Kühn FE 2002. Synthesis and characterization of the inclusion compound of a methyltrioxorhenium(VII) adduct of 4-ferrocenylpyridine with β -cyclodextrin. *J Organomet Chem* 656:281-287.
37. Braga SS, Almeida Paz FA, Pillinger M, Seixas JD, Romão CC, Gonçalves IS 2006. Structural studies of β -cyclodextrin and permethylated β -cyclodextrin inclusion compounds of cyclopentadienyl metal carbonyl complexes. *Eur J Inorg Chem* 1662-1669.
38. Khan AR, Forgo P, Stine KJ, D'Souza VT 1998. Methods for selective modifications of cyclodextrins. *Chem Rev* 98:1977-1996.
39. Jicsinsky, L., fenyvesi, É., Hashimoto, H., Ueno, A., 1996, editado por Szejtli L. e Osa T. em: Atwood J. E., Davies J. E. D., MacNiol D. D., Vögtle F., Lehn J.-M., *Comprehensive supramolecular chemistry*, vol.3, cap.4, 58-188, Pergamon, Oxford.
40. Cardinael P, Peulon V, Perez G, Coquerel G, Toupet L 2001. Characterization of crystalline complexes between heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin and various alkanes or alkenes. *J Incl Phenom Macrocyclic Chem* 39:159-167.
41. Caira MR, Griffith VJ, Nassimbeni LR, van Oudtshoorn B 1994. X-ray structure and thermal analysis of a 1:1 complex between (S)-Naproxen and heptakis (2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin. *J Incl Phenom Macrocyclic Chem* 20:277-290.
42. Tsorteki F, Bethanis K, Mentzafos D 2004. Structure of the inclusion complexes of heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin with indole-3-butyric acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Carbohydrate Res* 339:233-240.
43. Nagai, T., Ueda H., 1996, editado por Szejtli L. e Osa T. em: Atwood J. E., Davies J. E. D., MacNiol D. D., Vögtle F., Lehn J.-M., *Comprehensive supramolecular chemistry*, vol.3, cap.14, 441-450, Pergamon, Oxford.
44. Sheng X, Belletête M, Durocher G 1998. Conformation-dependent binding of diheptanoylphosphatidylcholine by cyclodextrins as revealed by proton nuclear magnetic resonance. *J Phys Chem B* 102:2502-2510.
45. Hedges AR 1998. Industrial applications of cyclodextrins. *Chem Rev* 98:2035-2044.
46. Van Hees T, Piel G, Hassonville SH, Evrard B, Delattre L 2002. Determination of the free/included piroxicam ratio in cyclodextrin complexes: comparison between UV spectrophotometry and differential scanning calorimetry. *Eur J Pharm Sci* 15:347-353.
47. Fernandes CM, Vieira MT, Veiga FJB 2002. Physicochemical characterization and in vitro dissolution behavior of nicardipine-cyclodextrins inclusion compounds. *Eur J Pharm Sci* 15:79-88.
48. Szejtli J 1997. Utilization of cyclodextrins in industrial products and processes. *J Mater Chem* 7:575-587.
49. Uekama K, Hirayama F, Irie T 1998. Cyclodextrin drug carrier systems. *Chem Rev* 98:2045-2076.
50. Loftsson T 2002. Cyclodextrins and the biopharmaceutics classification system of drugs. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* 44:63-67.
51. Singh M, Sharma R, Banerjee UC 2002. Biotechnological applications of cyclodextrins. *Biotechnol Adv* 20:341-359.
52. Szente L, Szejtli J 2004. Cyclodextrins as food ingredients. *Trends Food Sci Technol* 15:137-142.

53. Hashimoto H., 1996, editado por Szejtli L. e Osa T. em: Atwood J. E., Davies J. E. D., MacNiol D. D., Vögtle F., Lehn J.-M., *Comprehensive supramolecular chemistry*, vol.3, cap.16, 483-502, Pergamon, Oxford.
54. Nostro PL, Fratonì L, Baglioni P 2002. Modification of a cellulosic fabric with β -cyclodextrin for textile finishing applications. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* 44:423-427.
55. Buschmann H-J, Knittel D, Schollmeyer E 2001. New textile applications of cyclodextrins. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* 40:169-172.
56. Hashimoto H 2002. Present status of industrial application of cyclodextrins in Japan. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* 44:57-62.
57. Del Valle EMM 2004. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochem* 39:1033-1046.
58. Snopek J., Smoloková-Keulemansová E., Cserhádi T., Gahm K. H., Stalcup A., 1996, editado por Szejtli L. e Osa T. em: Atwood J. E., Davies J. E. D., MacNiol D. D., Vögtle F., Lehn J.-M., *Comprehensive supramolecular chemistry*, vol.3, cap.18, 516-571, Pergamon, Oxford.
59. Juvancz Z, Szejtli J 2002. The role of cyclodextrins in chiral selective chromatography. *Trends in Anal Chem* 21:379-388.
60. Chankvetadze B 2004. Combined approach using capillary electrophoresis and NMR spectroscopy for an understanding of enantioselective recognition mechanisms by cyclodextrins. *Chem Soc Rev* 33:333-347.
61. Bar R., 1996, editado por Szejtli L. e Osa T. em: Atwood J. E., Davies J. E. D., MacNiol D. D., Vögtle F., Lehn J.-M., *Comprehensive supramolecular chemistry*, vol.3, cap.13, 423-440, Pergamon, Oxford.
62. Szente, L., 1996, editado por Szejtli L. e Osa T. em: Atwood J. E., Davies J. E. D., MacNiol D. D., Vögtle F., Lehn J.-M., *Comprehensive supramolecular chemistry*, vol.3, cap.8, 253-278, Pergamon, Oxford.
63. Li X-T, Li J-H, Zhang G-E, Xi G-X, Lou X-D 1995. Kinetic studies on the thermal dissociation of β -cyclodextrin-anisaldehyde inclusion complex. *Thermochim Acta* 262:165-173.
64. Giordano F, Novak C, Moyano JR 2001. Thermal Analysis of cyclodextrins and their inclusion compounds. *Thermochim Acta* 380:123-151, e referências aqui citadas.
65. Bettinetti G, Novák C, Sorrenti M 2002. Thermal and structural characterization of commercial α -, β -, and γ -cyclodextrins. *J Therm Anal Cal* 68:517-529.
66. Nassimbeni LR 2003. Structure-reactivity relations of inclusion compounds. *CrystEngComm* 5:200-203.
67. Meyer MM, Luiz MTB, Szpoganicz B, Soldi V 2001. Thermal analysis behavior of β and γ -cyclodextrin inclusion complexes with capric and caprylic acid. *Thermochim Acta* 375:153-160.
68. Ribeiro-Claro PJA, Amorim da Costa AM, Vueba ML, Pina ME, Amado AM 2006. Para-halogenated benzaldehyde molecules included in cyclodextrins: a combined spectroscopic and thermal analysis. *J Raman Spectrosc* 37:472-479.
69. Szente, L., 1996, editado por Szejtli L. e Osa T. em: Atwood J. E., Davies J. E. D., MacNiol D. D., Vögtle F., Lehn J.-M., *Comprehensive supramolecular chemistry*, vol.3, cap.7, 243-252, Pergamon, Oxford.
70. Moreira da Silva AM, Amado AM, Ribeiro-Claro PJA, Empis J, Teixeira-Dias JJC 1995. β -cyclodextrin complexes of benzaldehyde, vanillin and cinnamaldehyde: a Raman spectroscopic study. *J Carb Chem* 14:677-684.

71. Amado AM, Ribeiro-Claro PJA 2000. Selection of substituted benzaldehyde conformers by the cyclodextrin inclusion process: a Raman spectroscopic study. *J Raman Spectrosc* 31:971-978.
72. Amado AM, Moreira da Silva AM, Ribeiro-Claro PJA, Teixeira-Dias JJC 1994. Meta-substituted styrene molecules included in cyclodextrins: a Raman Spectroscopic study. *J Raman Spectrosc* 25:599-605.
73. Ribeiro-Claro PJA, Amado AM, Teixeira-Dias JJC 1996. Substituted styrene molecules included in cyclodextrins : a Raman spectroscopic Study. Part II. *J Raman Spectrosc* 27:155-161.
74. Ross PD, Rekharsky MV 1996. Thermodynamics of hydrogen bond and hydrophobic interactions in cyclodextrin complexes. *Biophys J* 71:2144-2154.
75. Shibakami M, Sekiya A 1992. X-ray crystallographic study of fluorine atom effect on guest orientation inside the α -cyclodextrin cavity. *Chem Commun* 1742-1743.
76. Inoue M, Sakaguchi N, Isuzugawa K, Tani H, Ogihara Y 2000. Role of reactive oxygen species in gallic acid-induce apoptosis. *Biol Pharm Bull* 23:1153-1157.
77. Pérez-Alvarez V, Bobadilla RA, Muriel P 2001. Structure–hepatoprotective activity relationship of 3,4-dihydroxycinnamic acid (caffeic acid) derivatives. *J Appl Toxicol* 21:527-531.
78. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad Biol Med* 20:933-956.
79. Aruoma O, Murcia A, Butler J, Halliwell B 1993. Evaluation of antioxidant and prooxidant actions of gallic acid and its derivatives. *J Agric Food Chem* 41:1880-1885.
80. Cao G, Sofic E, Prior RL 1997. Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Rad Biol Med* 22:749-760.
81. Rajan P, Verdenikova I, Cos P, Berghe DV, Augustyns K, Haemers A 2001. Synthesis and evaluation of caffeic acid amides as antioxidants. *Bioorg Med Chem Lett* 11:215-217.
82. Castelluccio C, Bolwell GP, Gerrish C, Rice-Evans C 1996. Differential distribution of ferulic acid to the major plasma constituents in relation to its potential as an antioxidant. *Biochem J* 316:691-694.
83. Gomes CA, Girão da Cruz T, Andrade JL, Milhazes N, Borges F, Marques MPM 2003. Anticancer activity of phenolic acids of natural or synthetic origin: a structure-activity study. *J Med Chem* 46:5395-5401.
84. Gao T, Ci Y, Jiang H, An C 2000. FTIR investigation of the interaction of tumor cells treated with caffeic acid and chlorogenic acid. *Vib Spectrosc* 24:225-231.
85. Sergediene E, Jonsson K, Szymusiak H, Tyrakowska B, Rietjens ICM, Cenas N 1999. Prooxidant toxicity of polyphenolic antioxidants to HL-60 Cells: description of quantitative structure-activity relationships. *FEBS Lett* 462:392-396.
86. Fiuza SM, Gomes C, Teixeira LJ, Girão da Cruz MT, Cordeiro MNDS, Milhazes N, Borges F, Marques MPM 2004. Phenolic acid derivatives with potential anticancer properties - a structure–activity relationship study. Part 1: methyl, propyl and octyl esters of caffeic and gallic acids. *Bioorg Med Chem* 12:3581-3589.
87. Lee Y-T, Don M-J, Hung P-S, Shen Y-C, Lo Y-S, Chang K-W, Chen C-F, Ho L-K 2005. Cytotoxicity of phenolic acid phenethyl esters on oral cancer cells. *Cancer Lett* 223:19-25.
88. Hosoda A, Ozaki Y, Kashiwada A, Mutoh M, Wakabayashi K, Mizuno K, Nomura E, Taniguchia H 2002. Syntheses of ferulic acid derivatives and their suppressive effects on cyclooxygenase-2 promoter activity. *Bioorg Med Chem* 10:1189-1196.
89. Spivey R, Swofford R 1999. Inclusion Complexes of N-benzoyl-D-leucine and N-benzoyl-L-leucine with β -cyclodextrin by Raman spectroscopy. *Appl Spectrosc* 53:435-438.

90. Lamcharfi E, Kunesch G, Meyer C, Robert B 1995. Investigation of cyclodextrin inclusion compounds using FT-IR and Raman spectroscopy. *Spectrochim Acta* A51:1861-1870.
91. VanBesien E, Marques MPM 2003. Ab initio conformational study of caffeic acid. *J Mol Struct (Theochem)* 625:265-275.
92. Hsieh T-J, Su C-C, Chen C-Y, Liou C-H, Lu L-H 2005. Using experimental studies and theoretical calculations to analyze the molecular mechanism of coumarin, p-hydroxybenzoic acid and cinnamic acid. *J Mol Struct* 741:193-199.
93. Enkelmann V, Wegner G 1993. Single-crystal-to-single-crystal photodimerization of cinnamic acid. *J Am Chem Soc* 115:10390-10391.
94. Allen SDM, Almond MJ, Bruneel JL, Gilbert A, Hollins P, Mascetti J 2000. The photodimerisation of trans-cinnamic acid and its derivatives: a study by vibrational microspectroscopy. *Spectrochim Acta* A56:2423-2430.
95. Abdelmoty I, Buchholz V, Di L, Guo C, Kowitz K, Enkelmann V, Wegner G, Foxman BM 2005. Polymorphism of cinnamic and α -truxillic acids: new additions to an old story. *Crystal Growth & Design* 5:2210-2217.
96. Colthup NB, Daly LH, Wiberley SE Introduction to Infrared and Raman spectroscopy. Academic Press.
97. Hanai K, Kuwae A, Takai T, Senda H, Kunimoto KK 2001. A comparative vibrational and NMR study of cis-cinnamic acid polymorphs and trans-cinnamic acid. *Spectrochim Acta* A57:513-519.
98. García-Granda S, Beurskens G, Beurskens PT, Krishna TSR, Desiraju GR 1987. Structure of 3,4-dihydroxy-trans-cinnamic acid (caffeic acid) and its lack of solid-state topochemical reactivity. *Acta Cryst* C43:683-685.
99. Bryan RF, Forcier PG 1980. Crystal-structure basis for the absence of thermal mesomorphism in para-hydroxy-trans-cinnamic acid. *Mol Cryst Liq Cryst* 60:157-165.
100. Raghunathan S, Pattabhi V 1981. 3-coumaric acid. *Acta Cryst* B37:1299-1301.
101. Alfred Kolbe CG, Simone Biehler 2003. Molecular interactions in conjugates of dicarboxylic acids and amino acids. *J Mol Struct* 661-662:239-246.
102. Kolbe A, Plass M, Kresse H, Kolbe A, Drabowicz J, Zurawinski R 1997. Influence of molecular interactions on the stability of hydrogen-bonded dimers of carboxylic acids. *J Mol Struct* 436-437:161-166.
103. Jenkins SL, Almond MJ, Hollins P 2005. Gas-solid reactions of single crystals: a study of the reaction of bromine with single crystals of trans-cinnamic acid and a range of its derivatives by infrared and Raman microspectroscopy. *Phys Chem Chem Phys* 7:1966-1970.
104. Atkinson SDM, Almond MJ, Hollins P, Jenkins SL 2003. The photodimerisation of the α - and β -forms of trans-cinnamic acid: a study of single crystals by vibrational microspectroscopy. *Spectrochim Acta* A59:629-635.
105. Kokkinou A, Makedonopoulou S, Mentzafos D 2000. The crystal structure of the 1:1 complex of β -cyclodextrin with trans-cinnamic acid. *Carbohydrate Res* 328:135-140.
106. Breslow R, Trainor G, Ueno A 1983. Optimization of metallocene substrates for β -cyclodextrin reactions. *J Am Chem Soc* 105:2739-2744.
107. Odagaki Y, Hirotsu K, Higuchi T, Harada A, Takahashi S 1990. X-ray structure of the α -cyclodextrin-ferrocene (2:1) inclusion compound. *J Chem Soc Perkin Trans* 1:1230-1231.
108. Bakhtiar R, Kaifer AE 1998. Mass spectrometry studies on the complexation of several organometallic complexes by α - and β -cyclodextrins. *Rapid Commun Mass Spectrom* 12:111-114.

109. Turel I, Demšar A, Košmrlj J 1999. The interactions of titanocene dihalides with α -, β - and γ -cyclodextrin host molecules. *J Incl Phenom Macro Chem* 35:595-604.
110. Vinklársek J, Honzíček J, Holubová J 2005. Inclusion compounds of cystostatic active $(C_3H_5)_2VCl_2$ and $(CH_3C_5H_4)_2VCl_2$ with α -, β - and γ -cyclodextrins. Synthesis, EPR study and microbiological behavior toward *Escherichia coli*. *Central Eur J Chem* 3:72-81.
111. Harding MM, Mokdsi G 2000. Antitumour metallocenes: structure-activity studies and interactions with biomolecules. *Curr Med Chem* 7:1289-1303.
112. Vinklársek J, Paláčková H, Honzíček J, Holubová J, Holčápek M, Císařová I 2006. Investigation of vanadocene(IV) α -amino acid aomplexes: synthesis, structure, and behavior in physiological solutions, human plasma, and blood. *Inorg Chem* 45:2156-2162, e referências aqui citadas.
113. Clarke MJ 2002. Ruthenium metallopharmaceuticals. *Coord Chem Rev* 232:69-93.
114. Galanski M, Arion VB, Jakupec MA, Keppler BK 2003. Recent developments in the field of tumor-inhibiting metal complexes. *Curr Pharm Design* 9:2078-2089.
115. Wheate NJ, Collins JG 2003. Multi-nuclear platinum complexes as anti-cancer drugs. *Coord Chem Rev* 241:133-145.
116. Clarke MJ, Zhu F, Frasca DR 1999. Non-platinum chemotherapeutic metallopharmaceuticals. *Chem Rev* 99:2511-2533.
117. Jakupec MA, Galanski M, Keppler BK 2003. Tumour-inhibiting platinum complexes - state of the art and future perspectives. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 146:1-54.
118. Waern JB, Turner P, Harding MM 2006. Synthesis and hydrolysis of thiol derivatives of molybdocene dichloride incorporating electron-withdrawing substituents. *Organometallics* 25:3417-3421, e referências aqui citadas.
119. Waern JB, Harris HH, Lai B, Cai Z, Harding MM, Dillon CT 2005. Intracellular mapping of the distribution of metals derived from the antitumor metallocenes. *J Biol Inorg Chem* 10:443-452.
120. Challa R, Ahuja A, Ali J, Khar RK 2005. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review. *AAPS PharmSciTech* 6:E329-E357.
121. Utsuki T, Brem H, Pitha J, Loftsson T, Kristmundsdottir T, Tyler BM, Olivi A 1996. Potentiation of anticancer effects of microencapsulated carboplatin by hydroxypropyl α -cyclodextrin. *J Controlled Release* 40:251-260.
122. Sinisterra RD, Shastri VP, Najjar R, Langer R 1999. Encapsulation and release of rhodium(II) citrate and its association complex with hydroxypropyl- α -cyclodextrin from biodegradable polymer microspheres. *J Pharm Sci* 88:574-576.
123. Burgos AE, Belchior JC, Sinisterra RD 2002. Controlled release of rhodium (II) carboxylates and their association complexes with cyclodextrins from hydroxyapatite matrix. *Biomaterials* 23:2519-2526.
124. Holubová J, Černošek Z, Pavlík I 1997. Vibrational spectra of niobocene dichloride. *Vib Spectrosc* 14:147-150.
125. Casadesús R, Moreno M, González-Lafont A, Lluch JM, Repasky MP 2004. Testing electronic structure methods for describing intermolecular $H\cdots H$ interactions in supramolecular chemistry. *J Comput Chem* 25:99-105.

Capítulo VII

Considerações finais

*“O avanço e o progresso sério no trabalho
só pode ser atingido
quando há um interesse genuíno na matéria
em que se enquadra esse trabalho”*

B. Russel

ÍNDICE

Capítulo VII

<i>Considerações finais</i>	217
VII.1 – Conclusões finais	219
VII.2 – Trabalho futuro	220

VII.1 – Conclusões finais

A contextualização dos diversos tópicos de pesquisa desenvolvidos nesta dissertação na área da química supramolecular foi efectuada, possibilitando-se assim uma abordagem inicial ao trabalho de investigação e simultaneamente uma visão global do mesmo. A aplicabilidade da espectroscopia vibracional e dos cálculos *ab initio* no estudo de ligações de hidrogénio intermoleculares foi evidenciada, justificando-se assim a eleição destas duas técnicas, experimental e teórica, no trabalho de investigação desenvolvido nesta dissertação.

A atribuição completa do espectro vibracional constitui o primeiro passo para uma correcta interpretação das alterações verificadas no espectro em termos estruturais. Deste modo, foi necessário estabelecer primeiramente a atribuição completa dos espectros vibracionais da α -pirona, da cumarina e da dihidrocumarina. Este trabalho permitiu um progresso importante no âmbito da atribuição vibracional de compostos pertencentes à classe das lactonas, relativamente escassa na literatura existente.

A ocorrência de ligações de hidrogénio do tipo $C-H\cdots O$ envolvendo aceitadores do tipo carbonilo em sistemas em fase líquida foi investigada por espectroscopia vibracional apoiada por cálculos *ab initio*. Os sistemas em estudo, a ciclohexenona e a dihidrocumarina, foram escolhidos pela possibilidade de apresentarem ligações de hidrogénio do tipo $C-H\cdots O$, uma vez que possuem grupos aceitadores de hidrogénio, grupos $C=O$, e grupos doadores de hidrogénio, grupos $C-H$, de diferente natureza e que funcionam como sonda vibracional. Deste modo, a caracterização espectroscópica foi efectuada em termos dos comportamentos vibracionais dos modos de elongação $C-H$ (ν_{CH}) e $C=O$ ($\nu_{C=O}$), permitindo assim que os conhecimentos adquiridos com estes sistemas simples possam ser aplicados posteriormente em sistemas mais complexos. A difusão inelástica de neutrões foi utilizada como uma nova técnica na detecção e estudo de ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$, particularmente na identificação dos modos $\nu_{H\cdots O}$.

Uma nova metodologia PiMM – Pares em Materiais Moleculares – que proporciona não só um suporte teórico robusto para a atribuição completa do espectro vibracional, mas também a elucidação estrutural de alguns sistemas, foi apresentada. Esta metodologia permitiu a atribuição fidedigna dos espectros vibracionais das metil-xantinas, clarificando algumas atribuições erróneas encontradas na literatura. Adicionalmente, foi sugerida uma estrutura para a cafeína na forma anidra estável à temperatura ambiente, cuja estrutura cristalina ainda não foi

determinada, com base em ligações de hidrogénio intermoleculares fracas do tipo $C-H\cdots O$ e $C-H\cdots N$.

A aplicação de uma metodologia experimental com recurso à espectroscopia de Raman permitiu a monitorização qualitativa e quantitativa das transições pseudopolimórficas nos sistemas teofilina e cafeína. Deste modo, obtiveram-se informações acerca das alterações estruturais subjacentes aos processos de hidratação e desidratação bem como dos mecanismos envolvidos em ambos os processos e em diferentes condições experimentais. Adicionalmente, foram determinados os valores de humidade relativa crítica para as formas anidra e hidratada dos sistemas em estudo. Este trabalho de investigação justifica-se não só pelo facto destes fenómenos serem originados pela presença de diferentes ligações de hidrogénio e como tal terem um interesse para a presente dissertação, mas também dado o interesse científico actual destes tópicos no mercado farmacêutico em actual expansão.

A presença de ligações de hidrogénio foi também investigada em sistemas de uma complexidade superior aos sistemas enunciados anteriormente, concretamente em compostos de inclusão do ácido trans-cinâmico e seus derivados fenólicos em ciclodextrinas. Estes compostos foram estudados por espectroscopia de Raman e por análise termogravimétrica. A selectividade apresentada pelas ciclodextrinas por um determinado confórmero das moléculas hóspedes, evidenciada por alterações espectrais, foi justificada por cálculos *ab initio*.

Adicionalmente, foram estudados os compostos de inclusão do bisciclopentadienildicloreto de nióbio em ciclodextrinas β -CD e TRIMEB, tendo-se determinado a geometria mais estável para o composto de inclusão através da utilização conjugada da modelação molecular, efectuada por cálculos *ab initio*, com os dados obtidos por espectroscopia vibracional.

VII.2 – Trabalho futuro

Os resultados obtidos nos vários Capítulos podem ser complementados com outros trabalhos de investigação, envolvendo basicamente o mesmo tipo de técnicas abordadas nesta tese.

No contexto das transições pseudopolimórficas, estudos vibracionais que envolvam a medição da intensidade da banda de elongação $O-H$ permitem obter informação útil sobre a difusão das moléculas de água durante os processos de hidratação/desidratação.

No contexto da selectividade conformacional exibida pelas ciclodextrinas, os resultados obtidos nesta tese podem ser complementados pela realização, nos compostos de inclusão em ciclodextrinas, de estudos de variação de temperatura. Os estudos de variação de temperatura providenciam informação consistente relacionada com as atribuições de bandas pertencentes ao confórmero mais estável em cada par de bandas. Pela medição das intensidades de bandas dependentes da temperatura é possível calcular a diferença de energia entre confórmeros.

No contexto da metodologia PIMM, a sua utilização nas várias espectroscopias, nomeadamente espectroscopias vibracional, de ressonância magnética nuclear (RMN) e de luminescência poderia ser estendida à previsão de estruturas desconhecidas de materiais sintetizados no laboratório associado CICECO.

Capítulo VIII

Secção experimental e métodos computacionais

*“Não há saber
superior ou inferior
mas um só
que brota da experimentação”*

Leonardo da Vinci

ÍNDICE

Capítulo VIII

<i>Secção experimental e métodos computacionais</i>	223
VIII.1 – Secção experimental	225
VIII.1.1 – Materiais utilizados	225
VIII.1.2 – Preparação de amostras de teofilina/cafeína hidratadas e teobromina deuterada	225
VIII.1.3 – Preparação de amostras de teofilina/cafeína em diferentes condições experimentais	226
VIII.1.4 – Estudos de calibração realizados nos sistemas teofilina e cafeína	227
VIII.1.5 – Preparação de compostos de inclusão	227
VIII.1.5.1 – Ácido trans-cinâmico e seus derivados fenólicos em α -, β - e γ -ciclodextrinas	227
VIII.1.5.2 – Preparação de misturas físicas com diferentes proporções hóspede/hospedeiro	228
VIII.1.5.3 – Bisciclopentadienildicloreto de nióbio em β -ciclodextrina e TRIMEB	228
VIII.1.6 – Técnicas experimentais	228
VIII.1.6.1 – Espectroscopia de Raman	228
VIII.1.6.2 – Espectroscopia de Infravermelho	229
VIII.1.6.3 – Difusão inelástica de neutrões	229
VIII.1.6.4 – Análises termogravimétricas	230
VIII.1.6.5 – Análises gravimétricas	230
VIII.1.7 – Tratamento de dados	230
VIII.1.7.1 – Obtenção de pontos pseudo-isobésticos e ajuste de bandas	230
VIII.1.7.2 – Tratamento matemático	230
VIII.2 – Métodos computacionais	231
VIII.3 – Bibliografia	233

VIII.1 – Secção experimental

VIII.1.1 – Materiais utilizados

Os sistemas ciclohexenona (C_6H_8O , *Aldrich*, cHx), dihidrocinarina ($C_9H_8O_2$, *Aldrich*, DHCOU), α -pirona ($C_5H_4O_2$, *Aldrich*, α -PIR), cinarina ($C_9H_6O_2$, *Aldrich*, COU), teofilina ($C_7H_8N_4O_2$, *Sigma*, TP), teobromina ($C_7H_8N_4O_2$, *Sigma*, TB), cafeína ($C_8H_{10}N_4O_2$, *Fluka*, CA), ácido trans-cinâmico ($C_9H_8O_2$, *Aldrich*, t-CIA), ácido trans-3-hidroxicinâmico ($C_9H_8O_3$, *Aldrich*, t-3OHCIA), ácido trans-4-hidroxicinâmico ($C_9H_8O_3$, *Aldrich*, t-4OHCIA), ácido trans-3,4-dihidroxicinâmico ($C_9H_8O_4$, *Aldrich*, t-3,4OHCIA) e os solventes tetracloreto de carbono (CCl_4 , *Merck*), metanol (CH_3OH , *Aldrich*) e óxido de deutério (D_2O , *Aldrich*) foram obtidos comercialmente, com elevados graus de pureza e usados sem qualquer tipo de purificação adicional. Verificou-se que os tamanhos de grãos da TP e da CA se encontram compreendidos no intervalo 125-250 μm .

Na preparação de soluções saturadas foram utilizados os seguintes sais, obtidos comercialmente e sem qualquer tipo de purificação adicional: hidróxido de potássio (KOH, *Merck*), cloreto de lítio hidratado ($LiCl \cdot H_2O$, *BDH Chemicals*), acetato de potássio (CH_3COOK , *Panreac*), cloreto de cálcio dihidratado ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$, *Merck*), nitrato de zinco hexahidratado ($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, *Fluka*), tiocianato de potássio (KSCN, *Merck*), hidrogenossulfato de sódio monohidratado ($NaHSO_4 \cdot H_2O$, *Panreac*), brometo de sódio (NaBr, *Carlo Erba*), nitrato de amónio (NH_4NO_3 , *Aldrich*), nitrito de sódio ($NaNO_2$, *Aldrich*), tiosulfato de sódio pentahidratado ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$, *Merck*), cloreto de amónio (NH_4Cl , *Panreac*), sulfato de amónio ($(NH_4)_2SO_4$, *Aldrich*), brometo de potássio (KBr, *Aldrich*), hidrogenossulfato de potássio ($KHSO_4$, *May & Baker*), nitrato de potássio (KNO_3 , *Aldrich*).

As ciclodextrinas (α -, β - e γ -CD) foram gentilmente cedidas pela Wacker-Chemie (Alemanha).

VIII.1.2 – Preparação de amostras de teofilina/cafeína hidratadas e teobromina deuterada

As amostras de teofilina hidratada (TPh) foram preparadas por dissolução de TP anidra em água destilada a 60°C até se formar uma solução supersaturada. Após o arrefecimento da solução à temperatura ambiente, verificou-se a formação de cristais tipo agulhas que foram então filtrados do líquido-mãe, e deixados a secar em condições de temperatura ambiente e humidade relativa. Depois da secagem, os cristais foram suavemente

moídos até à obtenção de pós, que apresentaram tamanhos de grãos compreendidos entre 125-250 μm .

Os cristais de cafeína hidratada (CAh) foram preparados por um processo similar, utilizando-se no entanto uma temperatura de 80°C. Depois de obtida a amostra de CAh, com tamanhos de grãos compreendidos entre 125-250 μm , o seu armazenamento efectuou-se à temperatura ambiente, mas em reservatórios selados no interior dos quais se estabeleceu uma humidade relativa de 92%, isto é, na presença de uma solução saturada de nitrato de potássio, garantindo-se assim a completa hidratação da amostra.

As amostras de TP e CA hidratadas com água deuterada (TPh_d, CAh_d) foram preparadas por processos similares. A teobromina não existe na forma hidratada. No entanto, para confirmar as bandas atribuídas aos modos N-H da teobromina anidra (TBa) foi realizada a deuteração da TBa (TBa_d) por processos similares aos utilizados com a TP e CA.

VIII.1.3 – Preparação de amostras de teofilina e cafeína em diferentes condições experimentais

De maneira a estudar a cinética de hidratação da TP e CA, pequenas quantidades (aproximadamente 0.1g) de amostras de teofilina e cafeína anidra (TPa e CAa) foram armazenadas (durante diferentes períodos de tempo) à temperatura ambiente de 22°C em pequenos reservatórios selados no interior dos quais, por exposição a vapor de água, se estabeleceu uma humidade relativa (RH) de 100% (Figura VIII.1).

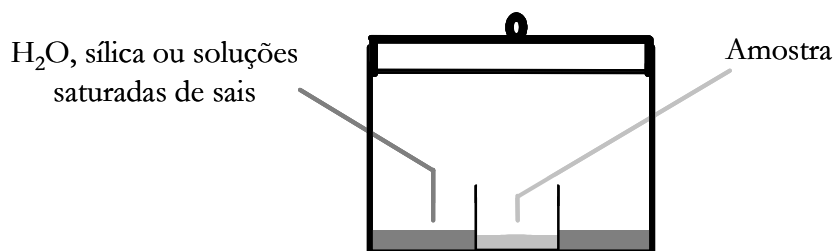


Figura VIII.1 – Representação esquemática do reservatório utilizado na exposição de amostras a determinados valores de humidade relativa (RH).

De maneira a determinar os valores de humidade relativa crítica para ambas as formas anidra (TPa, CAa) e hidratada (TPh, CAh), pequenas quantidades (aproximadamente 0.1g) de amostras de teofilina anidra e hidratada (TPa e TPh) e de cafeína anidra e hidratada (CAa e CAh) foram armazenadas, de acordo com a Figura VIII.1, e expostas a ambientes com diferentes RH. De maneira a estabelecerem-se ambientes com RH extremas, de 0 e 100%, utilizou-se, respectivamente, a sílica ou sulfato de cobre anidro e água destilada. Para obter as

diferentes RHs intermédias entre 0-100%, utilizaram-se as seguintes soluções saturadas de sais com depósito¹: 9% (KOH), 13% (LiCl), 20% (KC₂H₃O₂), 30% (CaCl₂), 42% (Zn(NO₃)₂), 48% (KCNS), 52% NaHSO₄, 58% (NaBr), 61% (NH₄NO₃), 66% (NaNO₂), 78% (Na₂SO₃), 79% (NH₄Cl), 81% ((NH₄)₂SO₄), 84% (KBr), 86% (KHSO₄) e 92% (KNO₃). Nesta situação, o tempo de armazenamento foi de uma semana, garantindo assim o tempo necessário para se estabelecerem condições de equilíbrio.

De maneira a estudar a influência da temperatura na cinética do processo de desidratação da TPh e CAh, pequenas quantidades (aproximadamente 0.1g) de amostras de TPh e CAh foram expostas a diferentes temperaturas, durante diferentes períodos de tempo. No caso das amostras CAh, utilizaram-se temperaturas de 35, 45 e 60°C, enquanto que para amostras TPh foram utilizadas temperaturas de 35, 40, 47 e 60 °C.

VIII.1.4 – Estudos de calibração realizados nos sistemas teofilina e cafeína

Os valores da fracção de hidratação e desidratação, respectivamente α_h e α_a , foram calculados de acordo com as equações 2 e 3 do Capítulo V e tendo em conta a relação das intensidades intrínsecas (δ_a/δ_h). No entanto, foi necessário proceder-se previamente ao cálculo desta relação. Deste modo, foram realizados estudos de calibração para os sistemas TP e CA, através do registo de espectros de Raman de misturas físicas de ambas as formas (anidra e hidratada) e com composição conhecida. Para cada mistura física, procedeu-se ao registo em triplicado dos espectros de Raman, isto é, foram registados espectros de diferentes partes da mistura física, garantindo-se assim a uniformidade dos resultados.

No caso da TP foram utilizadas misturas físicas com fracções molares de TPh iguais a 0.00, 0.08, 0.19, 0.33, 0.44, 0.49, 0.51, 0.64, 0.84, 0.89, 1.00.

No caso da CA foram utilizadas misturas físicas com fracções molares de CAh iguais a 0.00, 0.155, 0.500, 0.751, 1.00.

VIII.1.5 – Preparação de compostos de inclusão

VIII.1.5.1 – Ácido trans-cinâmico e seus derivados fenólicos em α -, β - e γ -ciclodextrinas

Os hóspedes, ácido trans-cinâmico (t-CIA) e seus derivados fenólicos (t-3OHCIA, t-4OHCIA e t-3,4OHCIA) não são solúveis em água, pelo que tiveram de ser dissolvidos previamente em etanol. Os compostos de inclusão em α -, β - e γ -CD foram preparados por um processo de precipitação^{2,3}, na proporção 1:1 (hóspede:hospedeiro). Assim sendo,

adicionaram-se, gota a gota, as diferentes soluções dos hóspedes em etanol às diferentes soluções aquosas de α -, β - e γ -CD. A mistura resultante foi mantida sob agitação a cerca de 40°C durante algumas horas. De seguida, promoveu-se o arrefecimento da mistura resultante até à temperatura ambiente, tendo-se obtido um precipitado de cor branca. Este foi filtrado e exposto à temperatura ambiente durante 1-2 dias para promover a sua secagem. Depois de seco, foi moído suavemente até à obtenção de um pó fino. Estes compostos de inclusão demonstraram ser estáveis durante vários meses.

VIII.1.5.2 – Preparação de misturas físicas com diferentes proporções hóspede/hospedeiro

As misturas físicas, com diferentes proporções hóspede:hospedeiro, foram preparadas por simples moagem num almofariz. Previamente, foram calculadas as quantidades de hóspede e hospedeiro necessárias para constituir proporções 1:1, 1:2 e 2:1.

VIII.1.5.3 – Bisciclopentadienildicloreto de nióbio em β -CD e TRIMEB

Os compostos de inclusão do bisciclopentadienildicloreto de nióbio (Cp_2NbCl_2) na β -CD e na TRIMEB foram preparados pelo grupo de investigação liderado pela Professora Doutora Isabel Gonçalves.

VIII.1.6 – Técnicas experimentais

VIII.1.6.1 – Espectroscopia de Raman

Os espectros de Raman obtidos com variação de temperatura foram registados num espectrómetro dispersivo Jobin Yvon T64000 (comprimento focal de 0.640 m com uma abertura de f/7.5) utilizando um detector de CCD arrefecido com azoto líquido e equipado com um laser de Ar^+ a emitir na linha 514,5 nm (verde) de marca Coherent, modelo Inova 90. O controle de temperatura foi efectuado por termopar e utilizou-se um fluxo de azoto aquecido/arrefecido. O erro de temperatura é de cerca de 1 °C.

Os espectros de Raman na região 70-5000 cm^{-1} foram registados à temperatura ambiente num espectrómetro de Raman com transformada de Fourier Bruker RFS-100 utilizando um detector InGaAs, equipado com um laser díodo de Nd:YAG a emitir a 1064 nm, de marca Coherent, modelo Compass 1064/500 N. A resolução utilizada foi de 2 cm^{-1} .

As amostras líquidas foram seladas em tubos capilares de vidro Kimax (diâmetro interno de 0.8 mm) e as amostras sólidas foram colocadas num porta-amostras apropriado para o efeito.

De modo a obter uma boa razão sinal/ruído, o número de varrimentos foi variável consoante o tipo de amostras.

Para a maioria dos espectros, a potência do laser utilizada foi de 504 mW. No entanto, no registo dos espectros de Raman das metil-xantinas (TP, TB e CA), a potência do laser utilizada foi de 300 mW. Existem alguns trabalhos experimentais que indicam que a temperatura da amostra pode aumentar significativamente devido à exposição ao laser^{4,5}, o que pode provocar quer transformações polimórficas quer perda de moléculas de solvente. Para poder avaliar este efeito, amostras de teofilina e cafeína cristalizadas em água, TPh e CAh respectivamente, foram expostas continuamente a uma potência de laser de 300 mW durante duas horas, tendo sido registados 24 espectros, cada um dos quais com 5 minutos de exposição ao laser. A comparação dos vários espectros obtidos demonstra que as primeiras alterações espectrais devidas ao aquecimento da amostra, que manifestam alguma perda de moléculas de água, embora extremamente subtis, apenas se tornam observáveis depois de 35 minutos de exposição ao laser. Neste contexto, todos os registos dos espectros de Raman das metil-xantinas foram efectuados em 25 minutos ou menos.

VIII.1.6.2 – Espectroscopia de Infravermelho

Os espectros de infravermelho na região do infravermelho médio (400-4000 cm^{-1}) foram adquiridos à temperatura ambiente num espectrómetro Uican Mattson 7000, com transformada de Fourier, utilizando-se apodização triangular e resolução de 2 cm^{-1} . Foi utilizado uma fonte global, um detector sulfato de triglicina deuterada (DTGS), e janelas e pastilhas de KBr.

VIII.1.6.3 – Difusão inelástica de neutrões

Os espectros de difusão inelástica de neutrões (INS) foram obtidos no espectrómetro TOSCA, localizado no *Rutherford Appleton Laboratory*, instalação do ISIS- Chilton, Reino Unido. As soluções e os líquidos puros foram colocados em células de alumínio, com um volume de cerca de 2 cm^3 . Seguidamente, estas células foram colocadas num suporte próprio e introduzidas no espectrómetro onde foram arrefecidas a cerca de 20 K, em hélio líquido e sob

vácuo. Seguidamente, as amostras foram então sujeitas a exposição ao feixe de neutrões, tendo sido feitas várias acumulações de sinal até serem obtidas boas estatísticas, isto é, até que o erro associado ao sinal obtido representasse uma boa razão sinal-ruído.

VIII.1.6.4 – Análises termogravimétricas

As medições de TGA foram efectuadas num sistema TGA-50 Shimadzu, utilizando-se uma velocidade de aquecimento de $5^{\circ}\text{C min}^{-1}$, sob uma atmosfera de nitrogénio, com um fluxo de 20 mL min^{-1} . As amostras foram cuidadosamente pesadas e colocadas num suporte de platina com 5 mm de diâmetro.

VIII.1.6.5 – Análises gravimétricas

As pesagens das várias amostras de teofilina (TP) foram efectuadas numa balança analítica Mettler Toledo AB54, com limite de pesagem e grau de confiança de 1.0 g e 0.1 mg, respectivamente.

VIII.1.7 – Tratamento de dados

VIII.1.7.1 – Obtenção de pontos pseudo-isosbéticos e ajuste de bandas

De maneira a verificar a presença de pontos pseudo-isosbéticos, os espectros de Raman foram normalizados para uma área unitária, de acordo com o procedimento descrito por *Shurvell* e col.^{6,7}.

As intensidades de bandas integradas I_A e I_B , necessárias na Secção III.2.2.2 do Capítulo III, foram determinadas por ajustes de bandas, usando duas funções Gaussianas.

As intensidades de bandas integradas I_a e I_b , necessárias nas Secções V.2.2-V.2.5 do Capítulo V, foram determinadas por ajustes de bandas, usando duas funções Gaussianas ou duas funções Lorentzianas, consoante o melhor ajuste.

VIII.1.7.2 – Tratamento matemático

Diferentes critérios estatísticos podem ser utilizados na determinação do afastamento total de um conjunto de pontos medidos em relação aos calculados por uma relação linear. Dos vários critérios, o mais utilizado é o coeficiente de correlação (R^2) e o desvio padrão do declive da linha de regressão (S_b). Alguns autores^{8,9} demonstraram que a utilização do valor de

R^2 como único critério estatístico na escolha de um modelo cinético não é a mais adequada, particularmente quando se têm de distinguir mecanismos que apresentam coeficientes de correlação lineares (R^2) muito similares. Nestas situações, é vantajoso recorrer à utilização complementar do valor obtido para S_b , tal como evidenciado por *Davies e Pryor*⁹.

VIII.2 – Métodos computacionais

Os cálculos teóricos *ab initio* foram realizados com o pacote Gaussian 03W¹⁰, a correr num PC comum.

As estruturas moleculares dos monómeros (DHCOU, α -PIR, COU, TP, TB e CA), dos vários conformeros t-CIA, t-3OHClA e t-4OHClA e dos dímeros (DHCOU, TP, TB e CA) foram completamente optimizadas ao nível padrão B3LYP/6-31G*. Por sua vez, as estruturas do monómero e dos dímeros da cHx foram completamente optimizadas aos níveis padrão B3LYP/6-31G*, MP2/6-31G* e MP2/6-311++G**.

O erro de sobreposição de bases (BSSE) para as energias de dimerização da cHx foi estimado por cálculos de *contra-peso* (CP) usando a opção “Counterpoise=2” para o nível padrão B3LYP/6-31G* e a opção “Massage” para o nível padrão (MP2/6-31G*) existente no programa Gaussian.

As frequências vibracionais harmónicas foram calculadas, ao nível padrão B3LYP/6-31G* para todas as geometrias optimizadas, usando as segundas derivadas analíticas para confirmar a convergência dos mínimos na superfície potencial bem como avaliar as energias vibracionais do ponto zero (ZPVE). No caso do monómero e dos dímeros da cHx, as frequências foram calculadas ao nível B3LYP/6-31G* e ao nível MP2/6-31G*.

As frequências vibracionais calculadas (acima dos 500 cm⁻¹) foram corrigidas por um factor padrão, conforme o nível da teoria e bases utilizados¹¹. O programa *GaussView*¹² foi utilizado para visualizar as estruturas optimizadas e para estabelecer a atribuição dos modos vibracionais com base nos deslocamentos atómicos.

Informação adicional acerca das estruturas electrónicas das geometrias optimizadas do monómero e dos dímeros da cHx foi obtida pela análise das orbitais de ligações naturais (NBO)¹³.

Relativamente ao organometálico bisciclopentadienildicloreto de nióbio (Cp₂NbCl₂) livre, a estrutura completamente optimizada e as frequências vibracionais harmónicas foram calculadas ao nível B3LYP tendo-se usado o conjunto de base padrão LanL2DZ e potenciais

efectivos do cerne de *Los Alamos*¹⁴. Para efeito de comparação com os valores experimentais, as frequências vibracionais calculadas foram multiplicadas por um factor de 0.961¹⁵. De maneira a obter a melhor geometria da interacção organometálico-ciclodextrina, foram calculadas diferentes geometrias de inclusão possíveis para cada composto de inclusão por um método de determinação sequencial de energias de geometrias previamente definidas, calculadas ao nível HF com a base de potenciais efectivos do cerne de *Stevens/Basch/Krauss*^{16,17}. A estrutura cristalina de um composto de inclusão real β -CD.p-hidroxibenzaldeído¹⁸ foi utilizada como modelo para a geometria do hóspede β -CD. Para a geometria da TRIMEB, utilizou-se um modelo estrutural obtido por difracção de raios-X de pós. Este modelo foi estabelecido por um investigador do CICECO, Doutor Filipe Paz, que mantém uma colaboração com o grupo de investigação liderado pela Professora Doutora Isabel Gonçalves.

VIII.3 – Bibliografia

1. CRC Handbook of Chemistry and Physics a Ready-Reference Book of Chemical and Physical Data (64th Edition) Ed RC Weast MJ Astle WH Beyer CRC Press Inc Florida USA 1983, p. E42.
2. Hedges AR 1998. Industrial applications of cyclodextrins. Chem Rev 98:2035-2044.
3. Szente, L., 1996, editado por Szejtli L. e Osa T. em: Atwood J. E., Davies J. E. D., MacNiol D. D., Vögtle F., Lehn J.-M., Comprehensive supramolecular chemistry, vol.3, cap.7, 243-252, Pergamon, Oxford.
4. Johansson J, Pettersson S, Taylor LS 2002. Infrared imaging of laser-induced heating during Raman spectroscopy of pharmaceutical solids. J Pharm Biomed Anal 30:1223-1231.
5. Marigheto NA, Kemsley EK, Potter J, Belton PS, Wilson RH 1996. Effects of sample heating in FT-Raman spectra of biological materials. SpectrochimActa A52:1571-1579.
6. Pemberton RS, Shurvell HF 1995. Raman spectroscopic study of complex formation between p-cresol and propionitrile. J Raman Spectrosc 26:373-380.
7. Girling RB, Shurvell HFA 1998. Raman spectroscopic study of complex formation between o-cresol and propionitrile. Vib Spectrosc 18:77-82.
8. Brown ME, Galwey AK 1979. The distinguishability of selected kinetic models for isothermal solid-state reactions. Thermochim Acta 29:129-146.
9. Davis Jr WH, Pryor WA 1976. Measures of goodness of fit in linear free-energy relationships. J Chem Ed 53:285-287.
10. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Montgomery Jr. JA, Vreven T, Kudin KN, Burant JC, Millam JM, Iyengar SS, Tomasi J, Barone V, Mennucci B, Cossi M, Scalmani G, Rega N, Petersson GA, Nakatsuji H, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Klene M, Li X, Knox JE, Hratchian HP, Cross JB, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann RE, Yazyev O, Austin AJ, Cammi R, Pomelli C, Ochterski JW, Ayala PY, Morokuma K, Voth GA, Salvador P, Dannenberg JJ, Zakrzewski VG, Dapprich S, Daniels AD, Strain MC, Farkas O, Malick DK, Rabuck AD, Raghavachari K, Foresman JB, Ortiz JV, Cui Q, Baboul AG, Clifford S, Cioslowski J, Stefanov BB, Liu G, Liashenko A, Piskorz P, Komaromi I, Martin RL, Fox DJ, Keith T, Al-Laham MA, Peng CY, Nanayakkara A, Challacombe M, Gill PMW, Johnson B, Chen W, Wong MW, Gonzalez C, Pople JA 2003. Gaussian 03, Revision B.04, Gaussian Inc., Pittsburgh PA.
11. Scott AP, Radom L 1996. Harmonic vibrational frequencies: an evaluation of Hartree-Fock, Møller-Plesset, quadratic configuration interaction, density functional theory, and semiempirical scale factors. J Phys Chem 100:16502-16513.
12. GaussView 3.0, Gaussian Inc., Carnegie Office Park, Pittsburgh PA 15106, USA.
13. Glendening ED, Reed AE, Carpenter JE, Weinhold F NBO 3.0 Program Manual, Gaussian Inc., Pittsburgh PA.
14. Wadt WR, Hay PJ 1985. *Ab initio* effective core potentials for molecular calculations. Potentials for main group elements Na to Bi. J Chem Phys 82:284-298.
15. NIST Computational Chemistry Comparison and Benchmark Database, NIST Standard Reference Database Number 101, Release 12, Aug 2005, Editor: Russell D. Johnson III, <http://srdata.nist.gov/cccbdb>.
16. Stevens WJ, Basch H, Krauss M 1984. Compact effective potentials and efficient shared-exponent basis sets for the first- and second-row atoms. J Chem Phys 81:6026-6033.
17. Stevens WJ, Krauss M, Basch H, Jasien PG 1992. Relativistic compact effective potentials and efficient, shared-exponent basis sets for the third, fourth, and fifth-row atoms. Can J Chem 70:612-630.

18. Braga SS, Aree T, Imamura K, Vertut P, Boal-Palheiros I, Saenger W, Teixeira-Dias JJC 2002. Structure of the β -Cyclodextrin p-Hydroxybenzaldehyde Inclusion Complex in Aqueous Solution and in the Crystalline State. *J Incl Phenom Macrocyclic Chem* 43:115-125.